

Aus der Hautklinik der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Professor Dr. med. G. W. Korting

Der Einfluß bindegewebswirksamer
Substanzen (BAPN, Progesteron, Resochin)
auf den Proteasenspiegel (Kathepsine,
Leucin-Aminopeptidase und Trypsin)
im Rattenserum

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

MATHILDE BRAUN

geb. Bovenkerk

aus Obermoschel/Pfalz

Juli 1966



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Hautklinik der Johannes Gutenberg-Universität
Mainz

Direktor: Professor Dr.med. G.W. Korting

Der Einfluß bindegewebswirksamer Substanzen
(BAPN, Progesteron, Resochin) auf den Proteasenspiegel
(Kathepsine, Leucin-Aminopeptidase und Trypsin)
im Rattenserum

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Johannes Gutenberg-Universität
Mainz

vorgelegt von
Mathilde Braun
geb. Bovenkerk

aus
Obermoschel/Pfalz

Juli 1966



Dekan: Professor Dr.med. J. Borneff
Referent: Priv.Do. Dr.med. H. Holzmann
Korreferent: Professor Dr.med. G.W. Korting

Tag der mündlichen Prüfung: 9. 12. 1966

Fotodruck: Mikrokopie GmbH . München . Bruderstr. 9

Inhaltsverzeichnis

I Einleitung

- a. Allgemeiner Teil
- b. Spezieller Teil
 - 1. BAPN
 - 2. Progesteron
 - 3. Chloroquin

II Problemstellung

III Proteolytische Enzyme

- a. Kathepsine
- b. Leucin-Aminopeptidase
- c. Trypsin

IV Experimenteller Teil

- a. Verwendete statistische Verfahren
- b. Tierversuche
- c. Gewinnung des Serums
- d. Fermentbestimmung
 - 1. Kathepsine
 - 2. Leucin-Aminopeptidase
 - 3. Trypsin

V Ergebnisse

- a. Kathepsine
- b. Leucin-Aminopeptidase
- c. Trypsin

VI Diskussion der Ergebnisse

VII Zusammenfassung

VIII Anhang (Tabellen)

IX Literatur

I. Einleitung

a. Allgemeiner Teil

Seit KLEMPERER, POLLACK und BAEHR im Jahr 1941 mehrere Krankheiten verschiedener Ätiologie beschrieben, denen allen eine Veränderung des Bindegewebes im Sinne einer fibrinoiden Degeneration (KLINGE, 1934) gemeinsam war, hat die Bearbeitung der Mesenchymerkrankungen durch die Ausweitung der Grundlagenforschung des Bindegewebes überhaupt eine bemerkenswerte Entwicklung genommen. So hat sich einerseits die im Experiment durch β -Aminopropionitril (BAPN), dem Wirkstoff aus *Lathyrus odoratus*, erzeugte Mesenchymschädigung als Modell einer akuten Kollagenose sehr bewährt (DOERR, ROSSNER u. SCHREIL, 1960; HARTMANN, SEIFERT u. BÖLSING, 1963; STALDER, 1963), andererseits ist aber auch das Studium des Angriffspunktes und Wirkungsmechanismus von bindegewebswirksamen Substanzen (in dem vorliegenden Falle von Progesteron und Chloroquin) auf das normale Bindegewebe von größtem Interesse, da auf Grund ihrer therapeutischen Wirkung auf bestimmte Krankheiten des Bindegewebes unter Umständen Aufschlüsse über den Pathomechanismus dieser Krankheiten zu erwarten sind und außerdem die Kenntnis ihrer Effekte am Bindegewebe einen gezielten therapeutischen Einsatz ermöglicht.

b. Spezieller Teil

1. β -Amino-propionitril

Der primäre Angriffspunkt und spezifische Wirkungsmechanismus des BAPN auf den Stoffwechsel des Bindegewebes ist zur Zeit noch weitgehend unbekannt.

Auf Grund histochemischer, chemisch-analytischer (CASTELLANI u. CASTELLANI-BISI, 1958; KARNOVSKY, 1960) und radiochemischer Untersuchungen (KARNOVSKY u. KARNOVSKY, 1961) wird angenommen, daß der Angriffspunkt des BAPN im Mucopolysaccharidstoffwechsel zu suchen ist, während andere Autoren (VAN DEN HOOFF, LEVENE u. GROSS, 1959; LEVENE u. GROSS, 1959) glauben, daß die hauptsächliche Schädigung die kollagenen Fasern betreffe.

Makroskopisch zeigt sich unter der Einwirkung von BAPN eine Herabsetzung der Festigkeit der Bindegewebsstrukturen, als deren Folgen Verformungen der Knochen, Neubildungen im Bereich des Periosts, Zerreissungen der Epiphysenplatten, Lockerung und Loslösung der Sehnen und Ligamente an den Insertionsstellen, Hernien und degenerative Arthritis auftreten (HARTMANN, SEIFERT u. BÖLSING, 1963; STALDER, 1963). Der Tod der Versuchstiere wurde durch dissezierende Aneurysmen der Aorta, die durch Lockerung des Gefüges der Gefäßwandstrukturen durch ständige rhythmische und mechanische Belastung der Gefäßwände entstanden und Aortenrupturen bedingten, herbeigeführt (DOERR, 1960). Biochemische Untersuchungen der Grundsubstanz des Bindegewebes (HARTMANN u. SEIFERT, 1962) zeigten an BAPN-be-

handelten jungen Schweinen eine statistisch signifikante Abnahme des Hexosamins im Knorpelgewebe sowie eine meßbare Hexosaminabnahme in der Aortenwand.

Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen (HARTMANN u. BLEYL, 1962) ergaben ebenfalls eine Verminderung der sauren Mucopolysaccharide in der Interzellulärsubstanz der Aorta. Zu gleichen Ergebnissen kamen CHURCHILL, GELFANT, LALICH und ANGEVINE (1955). Demgegenüber fanden KENNEDY und KENNEDY (1962) bei ihren Untersuchungen über den Einbau von S³⁵ als Sulfat in die Grundsubstanz des Bindegewebes lathyritischer Ratten keine Vermehrung markierter sulfatierter Mucopolysaccharide.

Untersuchungen über die Wirkung des BAPN auf den Kollagenstoffwechsel in der Rattenhaut führten zu folgenden Ergebnissen:

Die löslichen Kollagenvorstufen und hier insbesondere die neutralsalzlösliche Fraktion sind stark erhöht (KÜHN, HOLZMANN u. KORTING, 1962). Am Einbau von C¹⁴-Glycin in das Kollagen der Rattenhaut (KÜHN, DURRUTI, IWANGOFF, HAMMERSTEIN, STECHER, HOLZMANN u. KORTING, 1964) konnte weiterhin gezeigt werden, daß die Kollagensynthese in der Zelle stark beschleunigt ist, während demgegenüber im extrazellulären Raum der Übergang des neutralsalzlöslichen in das unlösliche Kollagen durch Blockierung der inter- und intramolekularen Quervernetzungen verzögert wird. Kollagenmoleküle im neutralsalzlöslichen Zustand stellen nun eine gegenüber Gewebsproteasen besonders empfindliche Phase dar und können erst durch

eine Zusammenlagerung zu Aggregaten oder Fibrillen und eine damit erfolgende Stabilisierung der Dreikettenstruktur - d.h. durch einen Übergang in den unlöslichen Zustand - einem derartigen Einfluß entzogen werden. Eine Folgeerscheinung des verzögerten Übergangs in das unlösliche Kollagen ist daher ein verstärkter proteolytischer Abbau des neutralsalzlöslichen Kollagens, an dem auch Fermente vom Typ der Kathepsine beteiligt sind (HOLZMANN, KORTING u. MORSCHES, 1965). Diesem gesteigerten Kollagenabbau entspricht auch eine im Harn lathyritischer Ratten nachgewiesene vermehrte Ausscheidung von Hydroxyprolin, das ja praktisch nur als Bestandteil des Kollagens vorkommt und somit den Kollagenstoffwechsel im Bindegewebe widerspiegelt (MARTIN, MERGENHAGEN u. PROCKOP, 1961; ORBISON, McCRARY u. CALLAHAN, 1965). Weiterhin konnte sowohl durch den Nachweis einer erhöhten Aktivität der Transaminasen (KORTING, HOLZMANN u. MORSCHES, 1966) sowie der muskelspezifischen Enzyme Kreatin-Phosphokinase (HOLZMANN, KORTING u. MORSCHES, 1965) im Serum lathyritischer Ratten, wie auch histomorphologisch (HOLZMANN, KORTING u. MORSCHES, 1965) gezeigt werden, daß durch BAPN eine beträchtliche Schädigung der Skelettmuskulatur auftritt. ASCHKENASY, AUFFRET und PIETTE (1959) fanden nach BAPN-Behandlung bei Ratten im Femurschaft eine Vermehrung der alkalischen Phosphatase, im Knochenmark dagegen eine Verminderung.

2. Progesteron

Die Wirkung von Progesteron auf das Bindegewebe besteht in einer Hemmung der Faserbildung des Kollagens, die eine Auflockerung und Aufweichung des Bindegewebes, eine unregelmäßige Ausbildung der Kollagenfibrillen in Länge und Dicke sowie eine verzögerte Wundheilung bedingt (HARKNESS u. HARKNESS, 1954; FAINSTAT, 1962). THER, SCHRAMM und VOGEL (1963) stellten bei Ratten eine Herabsetzung der Reißfestigkeit der Femurepiphysefuge unter dem Einfluß von Progesteron fest. LIPSCHÜTZ u.a. (1957) erzielten mit Progesteron einen antifibromatogenen Effekt bei Bindegewebsgeschwülsten, die durch große Oestradiolmengen hervorgerufen waren. Weiterhin können auch durch synthetische Gestagene endometrische Herde sowie die Begleitschrumpfung der betreffenden Bänder (Ligamenta lata und sacrouterina) beseitigt werden (HELPAP, 1963).

Untersuchungen, die sich mit dem Einfluß des Progesterons auf den Kollagenstoffwechsel in der Rattenhaut befaßten, erbrachten folgende Resultate:

Nach 14-tägiger Behandlung der Tiere mit Progesteron sind die löslichen Kollagenvorstufen erhöht (HOLZMANN, KORTING, HAMMERSTEIN, STECHER, DURRUTI, IWANGOFF u. KÜHN, 1964). Am Einbau von ^{14}C -Glycin in das Kollagen der Rattenhaut konnte nachgewiesen werden, daß die Synthese des Kollagenmoleküls innerhalb der Zelle

kaum beeinflußt wird, im extrazellulären Stoffwechsel dagegen der Übergang vom löslichen in das unlösliche Kollagen bzw. die Ausbildung der intermolekularen Bindungen verzögert ist (KÜHN, STECHER, DURRUTI, IWANGOFF, HAMMERSTEIN, HOLZMANN u. KORTING, 1965). Wie im Falle des experimentellen Lathyrismus bereits ausführlich beschrieben, ist auch hier die Folge des verlangsamten Übergangs in das unlösliche Kollagen ein verstärkter Abbau der neutralsalzlöslichen Fraktion, an dem ebenfalls proteolytische Fermente vom Typ der Kathepsine beteiligt sind (HOLZMANN, MORSCHEs u. KORTING, 1965). Dieser Effekt eines durch Gestagene induzierten Kollagenabbaues wurde zur Behandlung der Sklerodermie herangezogen (HOLZMANN, KORTING u. MORSCHEs, 1965), bei der elektronenoptische und biochemische Befunde auf eine gesteigerte Neofibrillogenese bzw. Kollagen-Neubildung (KORTING, 1954; KORTING, HOLZMANN u. KÜHN, 1959) sowie eine mangelnde Reifung und einen verlangsamten Abbau des Kollagens (KORTING, HOLZMANN u. KÜHN, 1964) schließen lassen. Der hier weitgehend eingeschränkte Abbau des vermehrt anfallenden neutralsalzlöslichen Kollagens wird auch durch eine innerhalb der Norm liegende Hydroxyprolin-Ausscheidung im Urin von Kranken mit progressiver Sklerodermie bestätigt (RODNAN u. CAMMARATA, 1963; KORTING u. HOLZMANN, 1965; SMITH, RUKAVINA u. HAALAND, 1965) und läßt sich vermutlich auf das Fehlen proteolytischer Gewebsenzyme zurück-

führen (STEIGLEDER, KUDICKE u. KAMEI, 1962). Einen verstärkten Abbau der neutralsalzlöslichen Kollagen-Fraktion bei Sklerodermie-Kranken unter der Therapie mit Gestagenen konnten HOLZMANN, KORTING und MORSCHES (1965) auf Grund der deutlich erhöhten Hydroxyprolin-ausscheidung im Urin nachweisen.

Untersuchungen über die Beeinflussung von Fermentaktivitäten durch Progesteron liegen zur Zeit nur in geringem Umfang vor. So steigert Progesteron die Aktivität der Serum-Cholinesterase beim Menschen wie auch beim Hund (HABBE u. PFOERTNER, 1951). Durch Progesteronzusatz ($0,3 \text{ ml } 10^{-3} \text{ m}$) zeigt sich eine Hemmung der ATP-ase-Aktivität der Myofibrillen (und Mitochondrien) von Skelett- und Herzmuskel des Meerschweinchens (MOR, 1953). Rattenleber-Mitochondrien werden durch Progesteron in ihrer ATP-ase-Wirkung

1. gehemmt (MOR, 1955),
2. in bestimmten Konzentrationen
aktiviert (WADE u. JONES jr., 1956).

Bei Rattenleber-Homogenat wurden je nach Versuchsbedingungen eine Hemmung, Aktivierung oder Unbeeinflussbarkeit der ATP-ase-Aktivität durch Progesteron festgestellt (JONES jr. u. WADE, 1953). Bei Kaninchen steigt nach Injektion von Progesteron der Histaminasegehalt im Endometrium des Kaninchenuterus an (AHLMARK u. SWANBERG, 1953).

Ebenso wird die Carbanhydrase-Aktivität im Endometrium gesteigert (LUTWAK-MANN u. ADAMS, 1957).

3. Chloroquin

Bei dem Chinolin-Derivat Chloroquin bzw. "Resochin"^(R) handelt es sich um eine synthetische Substanz, die zunächst als Mittel gegen Malaria, dann aber auch als Antiphlogisticum und Bindegewebstherapeuticum verwendet wurde.

Untersuchungen zur Wirkungsweise des Chloroquins auf das Bindegewebe ergaben eine Hemmung des Zellwachstums von Fibroblasten-Kulturen und damit eine Beeinträchtigung der Kollagen-Synthese (HABERLAND, BUSCH, FINK u. FRIEDRICH, 1959; HABERLAND, 1960; weiter auch LIPP, 1964) sowie eine Hemmung der Wucherung von Zellen des Ehrlich-Ascites-Carcinoms bei der Maus (MÜLLER, KREMMER u. WELCKER, 1964). Lichtoptisch konnte nach Chloroquininjektion in der Haut von Ratten lokale Nekrose mit randwärtig leucocytärer sowie bindegewebszelliger Abkapselung festgestellt werden, wobei das elektronenoptische Substrat auf eine stärkere Umschichtung der Kollagenfibrillen mit amorphem Material hindeutet. Dies rechtfertigt die Annahme, daß durch die lokale Zufuhr von Chloroquin über Entmischungsvorgänge an der Grundsubstanz hinaus eine heftige zelluläre Abwehrreaktion in der Umgebung ausgelöst wird (KORTING, HOLZMANN u. KÜHN, 1959).

Im Rohwatte-Granulom-Versuch konnte durch Chloroquin eine verminderte Bildung von Kollagenfasern beobachtet werden (DOMENJOZ u. THEOBALD, 1958). Bei der Überdosierung von Chloroquin hervorgerufene Zellnekrosen in der enzymgeschädigten Zone weisen keine Fibrillenbildung mehr auf.

Untersuchungen des Einflusses von Chloroquin auf den Kollagenstoffwechsel in der Rattenhaut erbrachten folgende Ergebnisse:

Während der Gesamt-Kollagengehalt unter dem Einfluß des Chloroquins praktisch unverändert bleibt, ist das Verhältnis von löslichem zu unlöslichem Kollagen zu den Vorstufen hin verschoben (KÜHN, HOLZMANN u. KORTING, 1962; HOLZMANN, KORTING, HAMMERSTEIN, STECHER, DURRUTI, IWANGOFF u. KÜHN, 1964).

Am Einbau von ^{14}C -markiertem Glycin in das Kollagen der Rattenhaut konnte weiterhin festgestellt werden, daß die intrazelluläre Kollagenbildung unter therapeutischen Dosen, wie sie in der Humanmedizin üblich sind, - bei der Ratte entspricht diese Dosierung einer täglichen Chloroquin-Gabe von ca. 1 mg - nur unwesentlich beeinflusst wird. Bei einer 15-fachen Dosierung von Chloroquin hingegen ist die Kollagensynthese deutlich vermindert (KÜHN, HAMMERSTEIN, STECHER, DURRUTI, IWANGOFF, HOLZMANN u. KORTING, 1966).

Bei der Behandlung der Malaria mit Chloroquin beträgt

die Initial-Dosis 2 Tage 3 x 300 mg täglich, die weitere Dosierung für die nächsten 12 bis 19 Tage 300 mg täglich (CONAN, 1948 u. 1959), wobei ein therapeutischer Blutspiegel dieses Medikamentes von etwa 150 $\mu\text{g/l}$ erreicht wird. Diese Dosierung entspricht ungefähr der über Wochen dauernden Therapie beim chronischen Lupus erythematoses oder bei der chronischen Polyarthrititis mit 250 mg Chloroquin täglich (s. hierzu KUSCHINSKY u. LÜLLMANN, 1964).

Im extrazellulären Raum zeigt sich - unabhängig von der Dosierung des Chloroquins - ein deutlich hemmender Effekt auf die Alterung und Reifung des Kollagens, da der Übergang des neutralsalzlöslichen in das unlösliche Kollagen, d.h. die Ausbildung der inter- und intramolekularen Bindungen verzögert ist. Hierzu ist erwähnenswert, daß bei all diesen Vorgängen auch die nichtkollagenen Anteile der Grundsubstanz, wie z.B. die Mucopolysaccharide beteiligt sind, wie dies MÜLLER (1959) an Hand einer Ausfällung von Anionen-Kolloiden der Grundsubstanz und einer damit bedingten Veränderung des Gehaltes an Mucopolysacchariden durch Chloroquin nachweisen konnte.

II. Problemstellung

Es stellt sich nun die Frage, ob bei mit Chloroquin behandelten Ratten, entsprechend den bei BAPN und Progesteron erhaltenen Befunden (HOLZMANN, MORSCHES u. KORTING, 1965; HOLZMANN, KORTING u. MORSCHES, 1965), auch Fermente vom Typ der Kathepsine am Abbau des unter dem Einfluß dieses Chinolin-Derivates vermehrt anfallenden neutralsalzlöslichen Kollagens (NLK) beteiligt sind. Weiterhin erscheint es überprüfenswert, ob auch andere Proteasen, sowohl Endo- wie Exopeptidasen, nach Gaben von BAPN und Progesteron in größerer Menge im Bindegewebe nachweisbar sind und sich damit an dem Abbau des NLK, wie bereits im einzelnen ausgeführt, beteiligen.

Aufgabe dieser Arbeit war es deshalb, nach Gaben von Chloroquin die Kathepsin-Aktivität sowie nach Gaben von BAPN, Progesteron und Chloroquin die LAP- und Trypsin-Aktivität im Rattenserum zu bestimmen.

Bevor im folgenden die Untersuchungen im einzelnen aufgeführt werden, seien hier die wichtigsten Daten der in Rede stehenden proteolytischen Enzyme aufgeführt.

Peptidbindung spalten und Aminopeptidasen, welche auf die einer freien Aminogruppe benachbarte Peptidbindung einwirken. Hemmbar sind die Proteasen durch als Antiproteasen bezeichnete Inhibitoren. Diese Hemmsubstanzen sind zum Lebenserhalt notwendig und verhindern eine ungesteuerte Autolyse, die ein Charakteristikum der Todesveränderungen ist. Das Zusammenspiel von Aktivatoren und Inhibitoren der Proteasen kommt bei den zahlreichen biologischen und pathologischen Gegebenheiten zum Ausdruck.

a. Kathepsine

Bei den Kathepsinen handelt es sich um eine Vielzahl intrazellulärer, ubiquitär vorkommender proteolytischer Fermente vom Typ der Endopeptidasen, die sich voneinander durch ihre Spezifität gegenüber verschiedenen Substraten (Casein, Edestin, Serum, Gelatine, Hämoglobin sowie synthetischen Peptiden) unterscheiden und diese im schwach sauren Bereich bei p_H 3,5-4,1 spalten. Die proteolytische Aktivität der Kathepsine ist an die Globulinfraktion der Gewebsproteine gebunden.

In der Zelle sind die Kathepsine in den Lysosomen, Mitochondrien, Mikrosomen, im Cytoplasma und Zellkern lokalisiert. Nach LANG, SIEBERT, BALDUS und CORBET (1950)

ist die Kathepsinaktivität in den Zellkernen aus Leber und Niere ebenso groß wie im Cytoplasma. Ähnliche Befunde erhielten auch MAYER und GRECO (1951) bei der Aufarbeitung der Zelle in Zellkern, Mitochondrien, Mikrosomen und Cytoplasma. Die Verteilung der Kathepsinaktivität auf die einzelnen Zellfraktionen ist jedoch nicht konstant und kann durch äußere Faktoren, wie etwa Hunger, Zellalter, sowie von krankhaften Veränderungen der Organe (z.B. degenerative und regenerative Prozesse oder Tumoren) beeinflußt werden (s. hierzu STARK u. SIEBERT, 1954; STARK, 1959).

Die Kathepsine sind im Organismus weit verbreitet. So wurden sie z.B. in Gehirn, Leber, Milz, Magen, Pankreas, Niere, Placenta, Myelocyten, Lymphocyten, im Serum und in geringer Menge auch in der Muskulatur nachgewiesen. STARK (1959) untersuchte die Kathepsinaktivität in den Placenten verschiedener Schwangerschaftsdauer und fand "statistisch signifikant" unterschiedliche Werte, d.h. in der Frühgravidität bedeutend höhere Werte als am Ende der Schwangerschaft. Die echten Schwangerschaftsübertragungen wiesen die niedrigsten Werte auf.

Die Untersuchungen über die prozentuale Verteilung der Kathepsinaktivität in den Zellfraktionen der Placenta bei normalen Geburten ergaben:

77 % im Cytoplasma, 7 % im Kern und 14 % in den Mitochondrien. Bei Gestosen und Übertragungen fand sich je-

doch im Cytoplasma eine Aktivitätssteigerung von 10 % und in Mitochondrien und Zellkern eine Aktivitätsabnahme um 50 %. Dabei war die spezifische Aktivität (bezogen auf mg N der jeweiligen Zellfraktion) im Placentagewebe bei normalem Schwangerschaftsverlauf in allen Zellfraktionen gleich, wogegen sich bei Übertragung und Gestose in den Mitochondrien eine Aktivitätszunahme und bei Gestosen eine Aktivitätsabnahme im Cytoplasma zeigte.

Bei tumortragenden Tieren, gleichgültig ob es sich um Spontan-, überimpfte oder transplantierte Tumoren handelt, sind deutliche Aktivitätserhöhungen in den normalen Organen gegenüber einer nur geringen Aktivität im Tumor selbst feststellbar (s. hierzu STARK u. SIEBERT, 1954). PURR (1935) fand allerdings beim Melanosarkom vom Pferd gegenüber den normalen Organen erhöhte Aktivitäten. In Tierversuchen ergaben Schädigungen der Leber durch toxische Substanzen eine Verminderung der Kathepsinaktivität. Fasten und eiweißarme Ernährung bewirken ebenfalls eine Abnahme der Kathepsinaktivität. Auch in der menschlichen Haut, in der Epidermis wie auch in der Cutis, wurden proteolytische Fermente vom Typ der Kathepsine festgestellt (STÜTTGEN u. WÜRDEMANN, 1959; KLASCHKA, 1962).

Verschiedene Autoren, wie VOEGTLIN, KAHLER und FITCH (1935), BERGMANN und FRAENKEL-CONRAT (1937), TAUBER

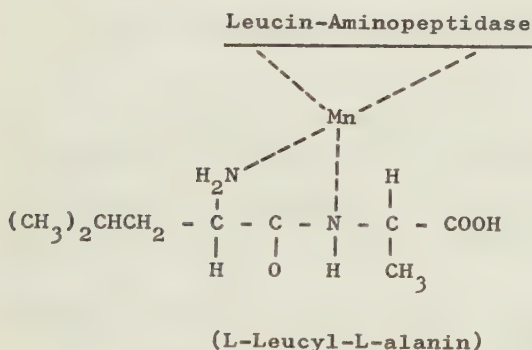
(1949), ziehen auch eine Funktion der Kathepsine als Katalysatoren bei der Eiweißsynthese in Erwägung. Diese Möglichkeit stützt sich auf folgende Befunde:

1. Vorkommen in Zellen mit aktiver Eiweißsynthese.
2. Zunahme in der kompensatorisch hypertrophierten Niere.
3. Starke Aktivitätszunahme in der regenerierenden Leber von Ratten und Vögeln.
4. Große Fermentkonzentration im Bein einer wachsenden Kaulquappe in den ersten Entwicklungsstadien.
5. Große Aktivität bei wachsenden Kükenembryonen (am 13.-14. Tag maximum).

b. Leucin-Aminopeptidase

Die Leucin-Aminopeptidase (LAP) ist ein proteolytisches Enzym vom Typ der Exopeptidase und spaltet im neutralen Bereich bei p_H 7,2-7,4 bevorzugt Peptide, deren freie Aminogruppe von L-Leucin gestellt wird, womit sie an der Endphase des Eiweißabbaues beteiligt ist. Zur Aktivierung der LAP sind zweiwertige Mn- oder Mg-Ionen erforderlich. Man vertritt die Meinung, daß eine dissoziabile Metall-Enzym-Substrat-Komplexverbindung eine Veränderung

der Bindungsverhältnisse im Substratmolekül im Sinne einer Lockerung veranlaßt. Die Spezifität auf die Leucyl-Gruppierung ist nicht absolut, da auch andere Peptide und Amide aliphatischer Aminosäuren hydrolysiert werden, jedoch weitaus langsamer (HOFFMANN-OSTENHOF, 1954).



Ebenfalls hemmende Wirkung auf die LAP zeigen Anionen, wie Citrat, Pyrophosphat und Äthylendiamintetraacetat, die zweiwertiges Mg binden.

Die LAP ist im Cytoplasma, den Mitochondrien und Mikrosomen lokalisiert (DIXON u. WEBB, 1964). Sie ist demgemäß wie die Kathepsine ein Zellenzym und wurde bisher mehr oder minder praktisch in allen Organen nachgewiesen (Übersicht s. bei GÖGGER, CREUTZFELDT u. MURUCAS, 1960, sowie bei DIXON u. WEBB, 1964).

Tabelle 1

Verteilung der LAP-Aktivität im Körper. Das Organ-
gewebe mit der größten Aktivität ist mit einem
Normwert von 100 angegeben, und die Aktivität aller
anderen Organe ist auf diese Zahl bezogen (nach
DIXON und WEBB, 1964).

Organ	Mensch	Ratte
Niere	3	100
Skelettmuskel	3	10
Gehirn	3	8
Dünndarm	3	59
Milz	2,5	12
Dickdarm	2,5	-
Leber	2	13
Magenschleimhaut	1,5	-
Pankreas	1,5	11
Thymus	0,8	-
Blut	0,1	-
Herz	-	10
Lunge	-	14

Wie aus Tab. 1 ersichtlich, ist im Gegensatz zu der Ratte die Verteilung der LAP im Körper des Menschen konstanter. Allerdings gibt es beträchtliche individuelle Verschiedenheiten im Enzymgehalt, und die oben angeführten Zahlen können nur als Durchschnittswerte betrachtet werden.

In der Cutis findet man eine hohe Aktivität der LAP um den Haarfollikel und die ekkrinen Schweißdrüsenendstücke sowie im Stratum papillare und subpapillare, in den Histiocyten und Fibroblasten, wobei letztere in Epidermisnähe eine stärkere Aktivität nachweisen als in der tieferen Cutis (ADACHI u. MONTAGNA, 1961; STEIGLEDER, KUDICKE u. KAMEI, 1962).

Weiterhin ergeben histochemische Untersuchungen übereinstimmend eine Aktivitätssteigerung der LAP im Stroma-bindegewebe von Tumoren und nur vereinzelt in den Tumorzellen selbst (RUTENBURG, 1958; GÖGGELE, CREUTZFELDT u. MURUCAS, 1960). Entsprechend findet sich auch bei Tumoren der Haut, z.B. beim spinocellulären Carcinom, in den wachsenden und mitotisch aktiven Zellen nur eine geringe, im angrenzenden Stroma dagegen eine hohe LAP-Aktivität. Dieser Befund ist bei infiltrierend wachsenden Tumoren besonders ausgeprägt (BRAUN-FALCO, 1957; BRAUN-FALCO, SALFELD u. BRAUN-FALCO, 1959). Weiterhin zeigt sich beim Lupus vulgaris eine deutliche LAP-Steigerung in den Epitheloidzellen (BRAUN-FALCO, 1961).

LAP-Erhöhungen im Serum lassen allgemein und verhältnismäßig unspezifisch einen aktiven und ausgedehnten Krankheitsprozeß annehmen, der entzündlicher, degenerativer oder neoplastischer Genese sein kann. So wurde bei Lebererkrankungen, akuten Pankreasaffektionen, Pankreastumoren, verschiedenen malignen Geschwülsten im Mund- und Halsbereich sowie bei einigen Hautkrankheiten ein erhöhter Serum-LAP-Spiegel nachgewiesen (s. hierzu GÖGGEL, CREUTZFELDT u. MURUCAS, 1960). Auffällig erhöhte Serumspiegel fanden sich bei Abflußbehinderung der Galle durch Gallenwegs- und Pankreas-erkrankungen und akuter Hepatitis. Bei primärem oder sekundärem Lebercarcinom ergab sich eine 2- bis 10-fache Erhöhung. Stark erhöht war die LAP bei intrahepatischer Cholestase, Virushepatitis (ikterische Phase), subakuter Lebernekrose, Lebermetastasen, Chlorpromazingelbsucht, extrahepatischer Gallenobstruktion und in einigen Fällen von Lebercirrhose (ARST, MANNING u. DELP, 1959; MILLER u. WORSLEY, 1960; SCHOBEL u. WEWELKA, 1962; WEBSTER u. ZIEVE, 1962; RUTENBURG, PINEDA, FISCHBEIM u. GOLDBARG, 1964).

Bestimmungen der LAP-Spiegel im Blut von Frauen, die unmittelbar vor der Geburt standen, im Nabelschnurblut der Feten und im Blut nichtschwangerer Frauen ergaben in allen Fällen im mütterlichen Blut eine erhöhte Aktivität (KOKOT u. CEKÁNSKI, 1963).

Auch andere Autoren berichteten über erhöhte Serumspiegel bei Schwangerschaft (BRAUN-FALCO u. SALFELD, 1957; ARST, MANNING u. DELP, 1959; MILLER u. WORSLEY, 1960; SCHOBEL u. WEWELKA, 1962). Außerdem fanden sich LAP-Erhöhungen bei einigen Hauterkrankungen: Neurodermitis diffusa, Ekzemen, Dermatitis, Pemphigus, Epidermolysis bullosa hereditaria und Erysipel (BRAUN-FALCO, SALFELD u. BRAUN-FALCO, 1959; SÖNNICHSEN, 1963).

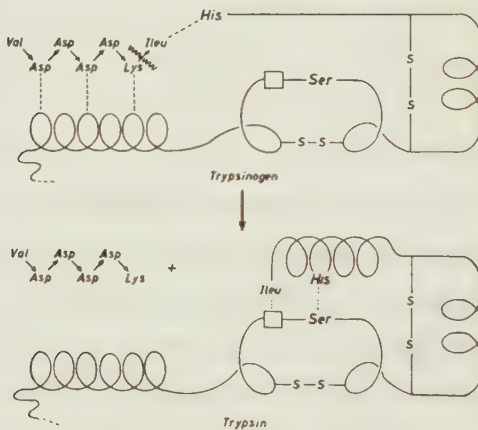
c. Trypsin

Das Trypsin ist ein proteolytisches Enzym vom Typ der Endopeptidasen. Es wird als Exkretenzym nur in den acinösen Zellen des exokrinen Pankreasteiles gebildet. Die Bildungsstelle ist das Ergastoplasma, und zwar entsteht dieses aus Sackbildungen des endoplasmatischen Retikulums. Diese Sackbildungen haben an der dem Cytoplasma zugewandten Oberfläche sehr kleine, abgerundete Partikel, die Palade'schen Granula. In Lumennähe sind diese Zymogengranula vermehrt (BESSIS, 1960; KARLSON, 1966). Das Trypsin entsteht aus Trypsinogen, welches in das Darmlumen sezerniert wird. Trypsinogen wird in aktives Enzym in zweierlei Weise umgewandelt:

1. durch die Enteropeptidase, welche von Zellen der Dünndarmschleimhaut gebildet wird;

2. von Trypsin selbst, welches aus Trypsinogen ein Hexapeptid $H_2N\text{-Val-Asp}_4\text{-Lys-COOH}$ abspaltet.

Die Umwandlung von Trypsinogen zu Trypsin ist ein echter autokatalytischer Prozeß. Alle entstandenen Enzymmolekel aktivieren die Proenzyme in einer sich schnell steigernden Umsetzung.



Aktives Trypsin entsteht auch durch Spaltung einer inaktiven Verbindung mit einem Hemmkörper, der Trypsin-Inhibitor-Verbindung. Der Inhibitor ist ein niedermolekulares Polypeptid. Natürliche Trypsin-Inhibitoren wurden aus Pankreas, Sojabohnen, Colostrum, Blutplasma und Hühnereiweiß isoliert (RAPOPORT, 1965;

KARLSON, 1966). Umgekehrt können Inhibitoren auch mit dem Enzym zusammentreten und somit, je nach Konzentration, seine Wirksamkeit zum Teil oder ganz aufheben.

Trypsin spaltet im schwach alkalischen Bereich bei p_H 7,5-8,5 die Peptidkette nur an Stellen von eingebauten Arginin- und Lysinresten. Für diese positiv geladenen Seitenketten wird ein Bindungszentrum aus negativ geladenen Carboxylionen in bestimmter Anordnung bereit gehalten, d.h. die spezifische Bindungsstelle faßt das Substrat und streckt den "empfindlichen" Teil der viel unspezifischeren, weniger eigentümlichen Wirkungsstelle, etwa einer Serin-Histidigruppierung, entgegen (weiteres s. FASOLD, 1964).

Trypsin katalysiert nicht nur die Hydrolyse von Peptidamiden, sondern auch von Peptidestern. Es ist nur wirksam in Gegenwart von Ca^{2+} -Ionen. Andererseits vermag die Bindung von Ca^{2+} an das Substrateiweiß auch dieses vor der Denaturierung zu bewahren. Eine gewisse Denaturierung aber ist wiederum die Voraussetzung für die Zerlegung durch Trypsin. Das Ca^{2+} wirkt also auf Enzym und Substrat in verschiedenem Sinne eine (NETTER, 1959).

KALLOS, KAHN und RIZOK (1964) ermittelten einen Normalwert der tryptischen Aktivität von 0-0,002 mMol/ml Plasma. Sie bestimmten auch den Trypsin-Inhibitor-

gehalt des Serums durch Inkubation steigender Serum-mengen mit einer Standardlösung von Trypsin. Die dabei gefundenen Werte stimmten mit denen anderer Autoren überein (BUNDY u. MEHL, 1958, s. bei KALLOS, KAHN u. RIZOK, 1964).

Durch Obstruktion des Pankreasganges und Funktionieren des acinösen Gewebes kommt es zu erhöhten Serum-Aktivitätsspiegeln von Trypsin. Des weiteren fanden diese Autoren, daß einige Patienten mit Pankreaserkrankung bedeutende Erhöhungen von Serumtrypsin hatten, andere nicht. Die Verfasser glauben, daß die Unterschiedlichkeit der Ergebnisse von vielen Ursachen abhängt:

1. Nicht alle Pankreaserkrankungen sind mit Obstruktion des Pankreasganges und voller Funktionstüchtigkeit der acinösen Zellen verbunden.
2. Die Unterschiedlichkeit ist abhängig vom Auftreten starker Serum-Trypsin-Inhibitoren und der Bildung eines Trypsin-Globulin-Komplexes.
3. Die Verwendung unterschiedlicher Methoden ist zur Serum-Trypsin-Aktivitätsbestimmung maßgebend.

NARDI (1959) bestimmte bei 180 Patienten Trypsin im Serum (mit und ohne Pankreaserkrankungen) und stellte fest, daß Erhöhungen, sowohl bei Pankreatitis wie auch bei Pankreascarcinom, zu finden waren.

Auch BROWN (1959) fand bei 8 Patienten mit akuter Pankreatitis anormal hohe Werte; Patienten mit nicht-pankreatischen Krankheiten des Abdomens dagegen wiesen normale Serumwerte auf. RUSH und CLIFFTON (1952), STEIN, POWERS und BROWNE (1956) berichteten vom Anwachsen der proteolytischen Aktivität des Trypsins bei akuter Pankreatitis bei Hunden, wenn die anti-proteolytische Aktivität vermindert war. Gleiches teilten GEIS und Mitarb. (1960) mit, die bei experimentell erzeugter hämorrhagischer Pankreatitis mit Schock und Toxämie hohe Serum-Aktivitätsspiegel feststellten und nach Injektion von Serumalbumin wieder einen normalen Serumspiegel beobachteten. (Albumin erscheint somit als "wirkliche" antitryptische Substanz.)

FLOCH und GROISSER (1960) fanden bei Patienten mit Pankreascarcinom und Pankreatitis keine erhöhten Serumwerte, desgleichen nicht bei genesenden Krankenhauspatienten. Die normalen, ambulanten Patienten zeigten höhere Werte der proteolytischen Serumaktivität. Faktoren wie jüngeres Alter, Abwesenheit von akuten Erkrankungen und Ambulation können Unterschiede des Serumspiegels bewirken. Die klinische Bedeutung einer niedrigen Serumaktivität kann auch bei thromboembolischen Prozessen von Bedeutung sein.

FORELL und DOBOVICNIK (1961) untersuchten die Hemm-

fähigkeit des Blutes gegenüber Trypsin. Einströmen von proteolytisch wirksamem Trypsin aus dem Pankreas in die Blutbahn setzt den Prothrombingehalt des Blutes herab. Bei Entzündung oder Schädigung des Pankreas übt das aktivierte Trypsin in der Drüse selbst seine proteolytische und fermentaktivierende Wirkung aus und tritt als freies Trypsin in die Blutbahn. Dort vermag es inaktiv vorliegende kreislaufwirksame Stoffe, wie Bradykininogen und das Kallikreinogen, zu aktivieren, die in ihrer wirksamen Form stark blutdrucksenkend wirken. Freies Trypsin im Serum führt zur Ausschwemmung von Histamin, zu Gefäßwandschädigungen und zu Veränderungen des Nierenparenchyms. Es kommt bei der schwersten Form der Pankreasnekrose, wenn große Mengen Trypsin in die Blutbahn übergetreten sind, zu schwerstem, kaum zu beeinflussenden Kreislaufkollaps, Albuminurie, Hämaturie, Rest-N-Steigerung und gelegentlich zu Pleura- und Pericarderguß (Pankreasenzyme enthaltend). Im Tierexperiment an Hunden und Katzen fand man im Verlauf einer akuten Pankreasnekrose einen **Aufbrauch von Kallikreinogen** des Blutes in manchen Fällen, wie ähnlich auch bei Prothrombin und Fibrinogen. Es kann dadurch angenommen werden, daß das Trypsin große Mengen Kallikreinogen aktiviert und das blutdrucksenkende Kallikrein durch Freisetzung verbraucht wird. Durch Trasylol^(R) (aus der Ohrspeicheldrüse des Rindes gewonnener Inhibitor) war es möglich, im Tierversuch

den Antitrypsinspiegel im Blut zu steigern und das Absinken nach erzeugter akuter Pankreasnekrose zu verhindern.

Weiterhin fand HOFF (1952) in den Organen der Bauchhöhle herdförmige Fettgewebsnekrosen, wenn im Pankreas aktiviertes Enzym auf dem Lymphwege dorthin gelangte. KEITH, BARNES und DENKEWALTER (1958) zeigten, daß die intraparenchymale Einspritzung von Trypsinogen nicht zur Pankreatitis führt, es sei denn, es würde erst zu Trypsin aktiviert. Gleiches gilt für die Obstruktion des Ductus oder einer aktiv sezernierenden Drüse; also erst nach der Aktivierung zu Trypsin kommt es zum Aufflammen der Pankreatitis.

Wirksam ist letztlich also, bei gleichem Trypsingehalt und unterschiedlichem Inhibitorgehalt, das aktive Trypsin (NARDI, 1959). Aus diesem Grunde wurde in den folgenden Untersuchungen nur letzteres berücksichtigt.

IV. Experimenteller Teil

a. Verwendete statistische Verfahren^{*}

Zur statistischen Auswertung der erhaltenen Untersuchungsergebnisse wurde

1. der Mittelwert nach der Formel

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

2. die Standardabweichung nach der Formel

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

3. die Standardabweichung des Mittelwertes nach der Formel

$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n \cdot (n-1)}}$$

berechnet.

Für die Prüfung der Unterschiede in den erhaltenen Resultaten auf Signifikanz wurde der Wilcoxon-Test für unverbundene Stichproben angewendet. Dieser Rangtest ist an keinerlei Voraussetzung z.B. bezüglich der Verteilung der Ausgangswerte gebunden.

^{*} Einzelwerte und statistische Auswertung s. Tabellen im Anhang.

Die Durchführung des Wilcoxon-Testes erfolgt nach folgendem Prinzip:

Den Einzelwerten der beiden zu vergleichenden Gruppen werden Rangnummern zugeteilt, und zwar dergestalt, daß der kleinste Meßwert die Nummer 1, der zweitkleinste die Nummer 2, der drittkleinste die Nummer 3 usw. und der größte die letzte Nummer erhält. Haben mehrere Meßwerte den gleichen Wert, dann wird an sie gleichmäßig der Mittelwert ihrer Anordnungszahlen vergeben. Die Numerierung erfolgt ohne Rücksicht darauf, ob der Fall in der behandelten oder unbehandelten Gruppe steht. Aus den Rangnummern der kleineren Gruppe (bei gleicher Gruppengröße einer beliebigen Gruppe) wird die Summe gebildet $= S_1$.

Das Wesen der weiteren statistischen Prüfung kann man sich folgendermaßen veranschaulichen: Wenn man z.B. aus einer Reihe von 30 Rangnummern (15 Rangnummern der behandelten und 15 Rangnummern der unbehandelten Gruppe) sehr oft 15 Rangnummern zufällig entnehmen und die Summe dieser zufällig entnommenen Rangnummern bilden würde, dann würden, kombinatorisch bedingt, bestimmte Rangsummen oft, andere selten, wieder andere sehr selten auftreten. Man prüft, ob die vorliegende Rangsumme einer der beiden Gruppen, z.B. der Kontrollgruppe, zu den selten auftretenden Summen gehört. Wenn dies der Fall ist, wird die Hypothese zufälliger Entnahme (Null-Hypothese) abgelehnt.

Als "selten" wird hier das Auftreten in höchstens 1 % einer großen Zahl von Versuchen bezeichnet. 1 % ist damit die Irrtumswahrscheinlichkeit (P), d.h. in 1 % wird die Null-Hypothese verworfen, obwohl sie zutrifft. Bei Vorliegen einer Irrtumswahrscheinlichkeit von höchstens 1 % ($P \leq 1 \%$) wird ein Unterschied als "signifikant" betrachtet. Wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit größer als 1 %, jedoch kleiner oder gleich 5 % ist ($1 < P \leq 5 \%$), bezeichnet man ein Resultat als "statistisch auffällig".

Sind z.B. viele Werte der mit BAPN behandelten Tiergruppe im Vergleich zu denen der Kontrollgruppe klein, dann erhalten sie kleine Rangnummern. Die Rangsumme S_1 wird dann klein ausfallen. Weicht die Rangsumme so stark von der Erwartung (Durchschnittswert der Rangsumme bei zufälliger Entnahme) ab, daß eine Abweichung gleicher Größe nach unten oder oben zufällig nur in höchstens 1 % vorkommt, wird die Zufallshypothese abgelehnt.

Der nach der Zufallshypothese unter $P \leq 1 \%$ zu erwartende Höchstwert für die Rangsummen wurde aus einer entsprechenden Tabelle (Documenta Geigy, 6. Aufl., 1960) abgelesen.

b. Tierversuche

Es wurden 4 Versuchsgruppen mit je 15 weiblichen

Tabelle 2

Dosierung von BAPN, Progesteron und Chloroquin

Wirkstoff	Applikations- art	Versuchs- dauer	Menge	
			pro Tag	insgesamt
Kontrolltiere	-	10 Tage	-	-
BAPN	per os	16 Tage	40 mg	640 mg
Progesteron	subcutan	14 Tage	0,5 mg	7 mg
Chloroquin (R) - diphosphat	per os	22 Tage	10 mg	220 mg

Albinoratten des gleichen Stammes, 105 $\pm$ 10 g schwer, angesetzt. Die Tiere erhielten als Grundnahrung 10 g Altromin + 10 g Hackfleisch täglich. Die Dosierung von BAPN, Progesteron* und Chloroquin sowie die Versuchsdauer ergeben sich aus Tab. 2.

c. Die Gewinnung des Serums

Zur Gewinnung von hämolysefreiem Serum wurden bei den mit Äther betäubten Ratten die freipräparierten Carotiden geöffnet und das frei auslaufende Blut in silikonisierten Zentrifugenröhrchen aufgefangen. Das Blut wurde eine Stunde in den Kühlschrank gestellt, dann bei 1500 U/min 20 Minuten zentrifugiert und das Serum mit ausgezogener Pipette vorsichtig abgezogen.

d. Fermentbestimmungen

Die Aktivitätsbestimmungen der Fermente erfolgte im Zeiss-Spektralphotometer P M Q II. Nach Inkubation mit spezifischen Substraten wurden die entstehenden Spaltprodukte photometrisch bestimmt.

* Proluton^(R) der Firma Schering A.G., Berlin

1. Kathepsine (ANSON, 1937)

a) Prinzip:

Denaturiertes Hämoglobin wird durch Kathepsine bei p_H 3,5 gespalten. Der Tyrosin- bzw. Tryptophangehalt der in Trichloressigsäure löslichen Spaltprodukte wird photometrisch bei 750 nm gemessen, mittels einer Eichkurve auf reines Tyrosin bezogen. Die Kathepsin-Aktivität wird als 10^{-6} mMol freigesetztes Tyrosin/ml Serum unter den Versuchsbedingungen von ANSON (10 Min. Inkubationszeit) angegeben.

Die Berechnung erfolgte nach folgender Formel:

$$(1) \quad \frac{c \cdot V \cdot 1000}{t} = 10^{-6} \text{ mMol freigesetztes Tyrosin/ml Serum}$$

c = aus der Eichkurve abgelesene Tyrosin-Konzentration im Bestimmungsansatz

V = Verdünnungsfaktor

t = Inkubationszeit in Minuten/V

b) Reagenzien:

1) 2,5-prozentige Hämoglobinlösung

(2,5 g Hämoglobin (vom Rind) werden in 100 ml bidest. Wasser gelöst. Ein geringer Niederschlag wird abzentrifugiert.)

2) Pufferlösung, PH 3,5

(1,35 M Essigsäure, 0,02 M Ammoniumsulfat)

3) 0,3 M Trichloressigsäurelösung

(49 g in bidest. Wasser lösen, auf 1000 ml auffüllen)

4) 0,5 n NaOH

(20 g in bidest. Wasser lösen, auf 1000 ml auffüllen)

5) Phenolreagenz

a) Stammlösung:

10 g $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, 2,5 g $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$,
15 g Li_2SO_4 , 5 ml 85-prozentige H_3PO_4 in
100 ml 1 n HCl.

b) Gebrauchslösung:

Stammlösung mit bidest. Wasser 1 : 3 verdünnen.

6) Tyrosinstandardlösung 10^{-3} m

(181,19 mg L-(-)Tyrosin mit 1 n HCl ad 1000 ml)

c) Ausführung der Bestimmungen:

Eichkurve:

In 50 ml Erlenmeyerkolben pipettieren:

0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 ml Tyrosinstandardlösung 10^{-3} m,

mit aqua dest. auf 5 ml auffüllen und 10 ml 0,5 n NaOH, 3 ml Phenolreagenz unter ständigem Schütteln zugeben. Nach 5 bis 10 Minuten werden die Extinktionen bei 750 nm photometrisch gemessen. Die so ermittelten Werte werden zur Ermittlung der Eichkurve aufgetragen.

Bestimmungsansatz:

5 ml Substrat und 1 ml Serum werden 3 Stunden bei 37° C inkubiert. Dann werden 10 ml Trichloressigsäure zugegeben, 10 Minuten stehen gelassen und vom entstandenen Niederschlag abfiltriert. 5 ml des Filtrates werden im 50 ml-Erlenmeyerkolben mit 10 ml 0,5 n NaOH versetzt, unter Schütteln gleichmäßig 3 ml Phenolreagenz zugefügt, eine etwaige Trübung abzentrifugiert und nach 5-10 Minuten gegen bidest. Wasser bei 750 nm photometrisch gemessen.

d) Berechnung:

Mit $V = \frac{16}{5}$ und $t = 36$ ergibt sich die Kathepsin-Aktivität nach Formel (1) : $c \cdot 88,9 = 10^{-6}$ mMol freigesetztes Tyrosin/ml Serum.

Da zur Bestimmung der Trypsin- und LAP-Aktivität synthetische Substrate eingesetzt wurden, die eine definierte Reaktion ergeben, erfolgte die Angabe der Aktivität dieser Enzyme in Millieinheiten (mE)/ml Serum.

Auf Vorschlag von RACKER und Mitarb. (1958) hat die Enzym-Commission der International Union of Biochemistry (IUB) die internationale Enzym-Einheit (IE) definiert als die Enzym-Menge, die ein mMol Substrat/min. umsetzt. Die übrigen Bedingungen sind 25° C, optimale Substrat-Konzentration, optimale Ionenstärke des Puffers und optimaler p_H-Wert. Eine IE = 1000 mE/ml.

Die Berechnung der Enzymaktivitäten erfolgte nach folgender Formel:

$$(2) \quad \frac{\Delta E \cdot V_1 \cdot V_3 \cdot 10^9}{\epsilon(\lambda) \cdot V_2 \cdot t \cdot d} = \text{mE/ml Serum}$$

ΔE = Extinktionsdifferenz

V_1 = Volumen des Bestimmungsabsatzes in ml

V_2 = eingesetzte Serummeng e in ml

V_3 = Verdünnungsfaktor des Serums

ϵ = Extinktionskoeffizient des gemessenen Spaltproduktes in cm²/Mol bei der Wellenlänge λ in nm

t = Inkubationszeit in Minuten

d = Schichtdicke der Küvette in cm.

2. Leucin-Aminopeptidase (NAGEL, WILLIG u. SCHMIDT, 1964)

a) Prinzip:

L-Leucin-p-nitranilid wird durch das Enzym Leucin-Aminopeptidase bei p_H 7,2 gespalten und das freigesetzte p-Nitranilin direkt bei 405 nm photometrisch bestimmt.

b) Reagenzien:

0,05 M Phosphatpuffer ($p_H = 7,2$)

(1,44 g K_2HPO_4 + 0,31 g KH_2PO_4 in bidest. Wasser gelöst und auf 100 ml aufgefüllt)

0,01 M Leucin-p-nitranilid

(23,7 mg Leucin-p-nitranilid werden in Methanol gelöst und auf 10 ml aufgefüllt)

c) Ausführung der Bestimmungen:

3,00 ml Phosphatpuffer und 0,10 ml Leucin-p-nitranilid-Lösung werden in ein Reagenzglas gegeben und 5 Minuten bei 25° C im Wasserbad stehen gelassen. Anschließend werden 0,10 ml hämolysefreies Serum beigemischt und die Extinktion E_1 gemessen. Nach 30-minütigem Stehen bei 25° C wird die Extinktion E_2 abgelesen. Die Extinktionsdifferenzen $E_2 - E_1$ gehen als ΔE in die Berechnung ein. Die Aktivität der Leucin-Aminopeptidase im Serum berechnet sich nach Formel (2) mit:

$$(405) = 9 \cdot 9 \cdot 10^{-6}, \quad V_1 = 3,2, \quad V_2 = 0,1, \quad t = 30'$$

und $d = 1$:

$$\Delta E = 108 \text{ mE/ml Serum.}$$

3. Trypsin (NAGEL u. WILLIG, 1964)

a) Prinzip:

Benzoylarginin-p-nitranilid wird durch das Enzym Trypsin bei p_H 7,8 gespalten und das freigesetzte p-Nitranilin direkt bei 405 nm photometrisch bestimmt.

b) Reagenzien:

0,2 M Tris-Puffer, $p_H = 7,8$; 0,025 M CaCl_2
(2,22 g Tris-hydroxymethyl-aminomethan und 0,368 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ werden in 60 ml bidest. Wasser gelöst, mit 1 n Salzsäure auf p_H 7,8 eingestellt und auf 100 ml aufgefüllt.)

0,01 M Benzoyl-p-nitranilid

(43,5 mg N Benzoyl-L-argininäthylester-hydrochlorid werden unter Erwärmen auf 50°C in 10 ml Dimethylformamid gelöst.)

c) Ausführung der Bestimmungen:

2,5 ml Tris-Puffer werden in ein Reagenzglas gegeben und 5 Minuten bei 25°C im Wasserbad stehen gelassen. Dann gibt man 0,2 ml 1:10 verdünntes hämolysefreies Serum hinzu, mischt und mißt die Extinktion E_1 . Man

läßt 15 Minuten bei 25° C stehen und mißt sodann die Extinktion E_2 . Die Extinktionsdifferenz $E_2 - E_1$ geht als ΔE in die Berechnung ein. Die Aktivität des Trypsins im Serum berechnet sich nach Formel (2) mit:

$$\mathcal{E} = 9 \cdot 9 \cdot 10^{-6}, \quad V_1 = 3,0, \quad V_2 = 0,2, \quad V_3 = 10, \\ t = 15 \text{ und } d = 1:$$

$$E \cdot 1000 = \text{mE/ml Serum.}$$

V. Ergebnisse

a. Kathepsine

Die Kathepsinaktivitäten im Serum von Kontrolltieren und mit Chloroquin behandelten Tieren unterscheiden sich "statistisch signifikant" (s. Tab. 3 und Abb. 1). Die Fermentaktivitäten liegen im Durchschnitt bei den mit Chloroquin behandelten Tieren um 165 % höher als die der Kontrolltiere.

b. Leucin-Aminopeptidase

Wie aus Tab. 4 und Abb. 2 ersichtlich, unterscheiden sich die gemessenen Fermentaktivitäten der Leucin-Aminopeptidase (LAP) im Serum der mit BAPN, Progesteron sowie Chloroquin behandelten Tiere von denen der Kontrolltiere "signifikant". Die Fermentaktivitäten lagen im Durchschnitt bei den mit BAPN behandelten Tieren um 34 %, bei den mit Progesteron behandelten um 25 % und bei den mit Chloroquin behandelten um 20 % über denen der Normaltiere.

c. Trypsin

Wie aus Tab. 5 und Abb. 3 hervorgeht, ist zwischen den im Serum gemessenen Trypsinaktivitäten der mit BAPN,

Tabelle 3

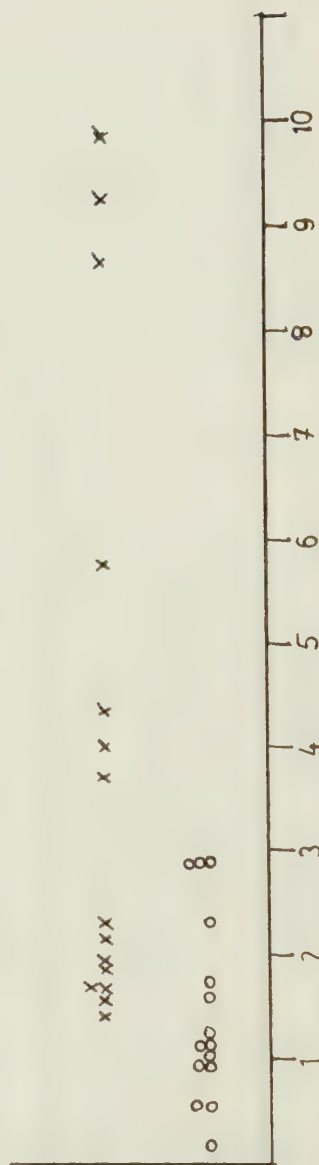
Kathepsingehalt im Serum von mit Chloroquin behandelten Ratten und Kontrolltieren. Die Angabe der Fermentaktivitäten erfolgt in mE/ml (s. hierzu auch Tab. 3 a, b und c im Anhang).

	Zahl d. Best.	Mittelwert $\bar{x}^*$	% d. Mittelw. d. Kontrollgruppe**	Standardabweichg. s	Standardabweichg. Mittelw. $s_{\bar{x}}$	Wert größt., kleinst.	Signifikanz
Kontrolle	15	2,45	100	1,43	0,37	4,71	p < 1
Chloroquin	15	6,50	265,4	4,8	1,24	15,82	
						0,44	
						2,31	

* Die Angabe der Kathepsin-Aktivität erfolgt in 10^{-6} mMol freigesetztes Tyrosin/ml Serum/10 min Inkubationszeit.

** Der Mittelwert der Kontrollgruppe ist gleich 100 % gesetzt.

Abb. 1
 Graphische Darstellung (Punktediagramm) der Kathepsin-Aktivität im Serum von
 Kontroll-Tieren (o) und mit Chlorophin behandelten Tieren (x).



10^{-6} mMol freigesetztes Tyrosin/ml Serum.

Tabelle 4

LAP-Gehalt im Serum von mit BAPN, Progesteron und Chloroquin behandelten Ratten und Kontrolltieren. Die Angabe der Fermentaktivitäten erfolgt in mE/ml (s. hierzu auch Tab. 4 a und b im Anhang).

	Zahl d. Best.	Mittelwert $\bar{x}^*$	% d. Mittelw. d. Kontrollgruppe**	Standardabweichg. s	Standardabweichg. Mittelw. $s_{\bar{x}}$	Wert größt., kleinst.	Signifikanz
Kontrolle	15	9,6	100,0	1,91	0,49	12,85 7,77	
BAPN	15	12,9	134,3	1,49	0,38	15,44 9,72	$p < 1$
Progesteron	15	12,0	125,0	1,11	0,29	13,93 10,36	$p < 1$
Chloroquin	15	11,48	119,7	1,70	0,44	13,93 8,74	$p < 1$

* Die Angabe der LAP-Aktivität erfolgt in mE/ml Serum.

** Der Mittelwert der Kontrollgruppe ist gleich 100 % gesetzt.

Abb. 2

Graphische Darstellung (Punktediagramm) der Leucin-Aminopeptidase-Aktivität im Serum von Kontroll-Tieren (o), von Chloroquin-behandelten (x), von Progesteron-(.) und BAPN-(+) behandelten Tieren.

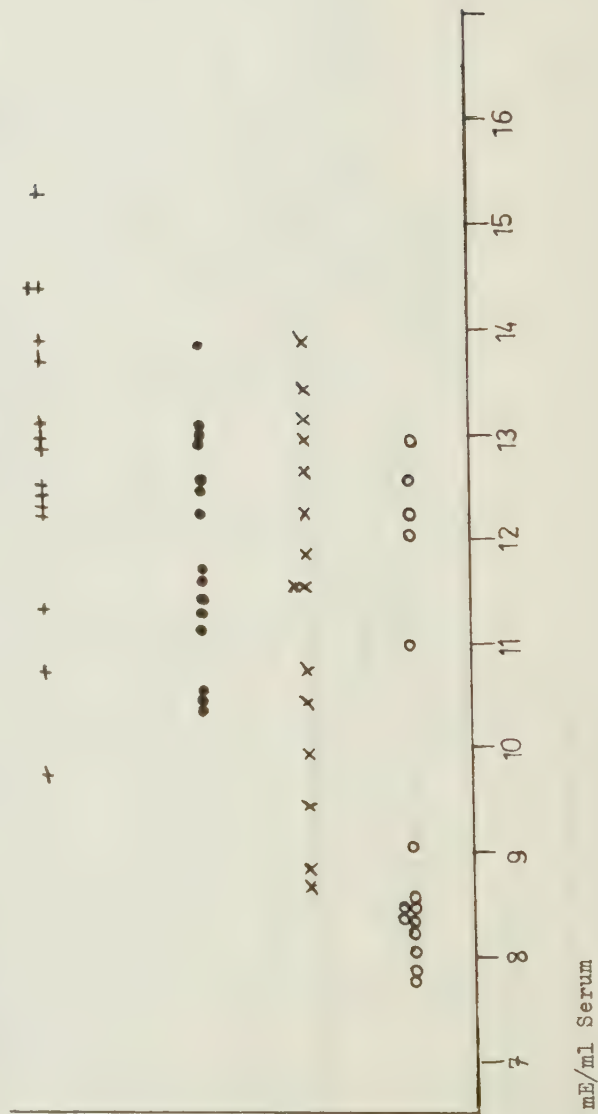


Tabelle 5

Trypsingehalt im Serum von mit BAPN, Progesteron und Chloroquin behandelten Ratten und Kontrolltieren. Die Angabe der Fermentaktivitäten erfolgt in mE/ml (s. hierzu auch Tab. 5 a und b im Anhang).

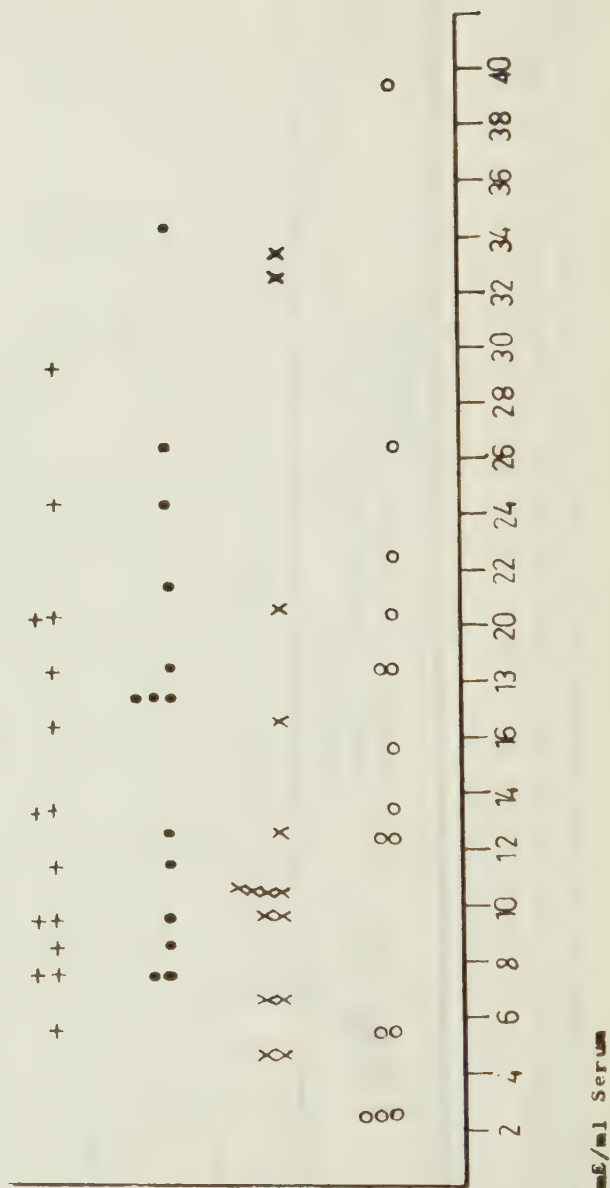
	Zahl d. Best.	Mittelwert $\bar{x}^*$	% d. Mittelw. d. Kontrollgruppe**	Standardabweichg. s	Standardabweichg. Mittelw. $s_{\bar{x}}$	Wert größt. kleinst.	Signifikanz
Kontrolle	15	15,1	100,0	10,37	0,27	40 3	
BAPN	15	14,9	98,7	6,79	0,17	30 6	$p > 5$
Progesteron	15	17,7	117,2	7,91	0,31	35 8	$p > 5$
Chloroquin	15	13,7	90,7	9,05	0,23	34 5	$p > 5$

* Die Angabe der Trypsin-Aktivität erfolgt in mE/ml Serum.

** Der Mittelwert der Kontrollgruppe ist gleich 100 % gesetzt.

Abb. 3

Graphische Darstellung (Punktediagramm) der Trypsin-Aktivität im Serum von Kontrolltieren (o), von mit Chloroquin (x), Progesteron (.) und BAPN (+) behandelten Tieren.



mE/ml Serum

Progesteron und Chloroquin behandelten Tiere und den von Kontrolltieren kein statistischer Unterschied erfaßbar. Die Fermentaktivitäten liegen im Durchschnitt bei den mit Progesteron behandelten Tieren um 17,2 % höher, bei den mit BAPN behandelten Tieren um 1,3 % und bei den mit Chloroquin behandelten Tieren um 9,3 % niedriger als die der Kontrolltiere.

VI. Diskussion

Aus den vorangehend mitgeteilten Ergebnissen geht hervor, daß nach Gaben von β -Amino-propionitril, Progesteron und Chloroquin im Serum von Ratten nicht nur Proteasen vom Typ der Kathepsine (Endopeptidasen), deren Wirkung auf das Kollagen bekannt ist, vermehrt vorkommen, sondern auch Exopeptidasen, die aus Peptiden endständige Aminosäuren abspalten. Daß die Verhältnisse im Blut in gewissem Umfang auch Rückschlüsse auf Vorgänge im Bindegewebe zulassen, geht aus zahlreichen Untersuchungen hervor, die zwischen den Proteinen - denen ja auch die Enzyme zuzurechnen sind - des Serums und der verschiedenen Gewebe einen regen Austausch feststellten (s. hierzu WUHRMANN u. MÄRKI, 1963). Auf Proteinverschiebungen zwischen Serum und Geweben beruht letztlich ja auch die gesamte Serum-Enzym-Diagnostik, welche auf Grund des Serum-Enzym-Spiegels Rückschlüsse auf Zellschädigungen bestimmter Organe zieht. Enzyme als hochmolekulare Eiweißkörper finden sich in allen Körperzellen in hohen Konzentrationen; ja sogar ca. 40 % des Körpereiwisses sind Enzymeiweiß (BÜCHER et al., 1959). Sie werden in der Zelle selbst gebildet und entfalten teilweise dort auch ihre Wirkung. Normalerweise erscheinen im Serum Enzyme nur in relativ niedriger Konzentration. Wird jedoch das physiologische Gleich-

gewicht des gesunden Organismus durch irgendwelche schädigende Ursachen gestört, so kann es zum Austritt der Enzyme aus den Zellen und Übertritt in das Serum kommen. So bezeichnet HESS (1957) die Enzyme als "Indikatoren der pathologischen Desintegration der Zelle".

Wie z.B. Untersuchungen an Rattenzwerchfell (BRUNS, BROSSWITZ, DENNEMANN, HORN u. NOLTMANN, 1961) und Asciteszellen (WARBURG, GAWEHN u. LANGE, 1954) ergaben, erfolgt der Enzymaustritt aus den Geweben schon bei leichten Zellschäden.

Die Enzyme gelangen

1. durch die intakte Zellmembran und Änderung der intrazellulären Enzymkonzentration,
2. durch Änderung der Zellpermeabilität oder nach Zerstörung der Zellstruktur

in das Serum.

Im ersteren Falle spricht man auch von der sogenannten "physiologischen Undichte der Zellmembran", die neuerdings experimentell bewiesen wurde (RAFTOPOULO, 1957).

In der klinischen Enzymdiagnostik werden die Enzyme nach Funktion und Herkunft aufgegliedert:

1. Enzyme mit Funktion außerhalb der Zelle
 - a. Exkretenzyme
 - b. Plasmaenzyme
2. Enzyme mit Funktion innerhalb der Zelle

a. Hauptkettenenzyme

b. organspezifische Enzyme.

Von den hier aufgeführten Enzymen gehören die Leucin-Aminopeptidase und die Kathepsine zu den Enzymen innerhalb der Zellen. Sie sind allerdings weder zu den Hauptketten- noch zu den organspezifischen Enzymen zu rechnen. Das Trypsin ist den Exkretenzymen zuzählen.

Serum-Aktivitätserhöhungen werden diagnostisch zur Erkennung von Krankheiten der Körpergewebe und Organe verwertet und differentialdiagnostisch beurteilt.

Daß auch spezifische Proteine des Bindegewebes in das Serum austreten und umgekehrt, solange sie ein gewisses Molekulargewicht nicht überschreiten, erhellt sich aus dem Vorkommen zahlreicher Serumproteine in der Haut (ADELMANN, MARQUART u. KÜHN, 1966) und dem Nachweis eines "Kollagen-ähnlichen", Hydroxyprolin-haltigen Proteins im Serum (LEROY, KAPLAN, UDENFRIEND u. SJOERDSMA, 1964; LEROY u. SJOERDSMA, 1965).

Wie oben bereits ausgeführt, nehmen einige Autoren (CASTELLANI u. CASTELLANI-BISI, 1958; KARNOVSKY, 1960; KARNOVSKY u. KARNOVSKY, 1961) den Angriffspunkt von β -Amino-propionitril im Mucopolysaccharidstoffwechsel an, während andere glauben (VAN DEN HOOFF, LEVENE u. GROSS, 1959; LEVENE u. GROSS, 1959), daß die primäre Einwirkung an der kollagenen Fibrille erfolgt. Letztlich ist jedoch der genaue Angriffspunkt von β -Amino-propionitril noch unbekannt, so daß die hier festge-

stellte Aktivitätsvermehrung der Leucin-Aminopeptidase im Serum hinsichtlich Einzelheiten des Mechanismus ihrer Aktivitätssteigerung nicht weiter interpretiert werden kann. Jedoch soll im Hinblick auf die Bedeutung dieses Fermentes für den Kollagenstoffwechsel hervorgekehrt werden, daß die Aufgaben der Leucin-Aminopeptidase in den stoffwechselaktiven Bezirken des Bindegewebes auf Grund ihrer Funktion nicht in einem Abbau des intakten Moleküls bestehen können. Vielmehr wird ihre Wirkung auf das Kollagen selbst sekundärer Art sein, indem sie Kollagen-Bruchstücke weiter spaltet. Ein weiteres Substrat für sie wäre zudem in den nichtkollagenen Proteinen des Bindegewebes zu suchen, die teilweise dem Serum entstammen, teilweise aber auch bindegewebsautochthon sind (ADELMANN, MARQUART u. KÜHN, 1966) und deren Bedeutung für die Fibrillenbildung und Reifung des Kollagens noch nicht vollständig geklärt ist (NEMETH-CSOKA, 1964; KÜHN, SCHUPPLER u. KÜHN, 1964).

Was nun die hier gefundene erhöhte Leucin-Aminopeptidase-Aktivität im Serum von mit Progesteron behandelten Ratten und den Wirkungsmechanismus dieses Hormons betrifft, so erklärt sich der beobachtete Effekt aus den physiologischen Aufgaben, die dieses Hormon in der Gravidität in Bezug auf Gewebsumbau und Stoffwechsel hat (s. hierzu auch die vorangehenden Ausführungen auf S. 5). Diese Resultate entsprechen auch

den Befunden von BRAUN-FALCO und SALFELD (1957), SCHOBEL und WEWELKA (1962) sowie KOKOT und CEKÁNSKI (1963), die erhöhte Leucin-Aminopeptidase-Werte im allgemeinen an Stellen einer verstärkten Stoffwechseltätigkeit, so z.B. im Bindegewebe in Zonen eines erhöhten Umbaues, also in der Nachbarschaft von invasiven Tumoren oder als Stromareaktion letzterer, beobachten konnten. Um die vorstehenden Ergebnisse einer erhöhten Aktivität proteolytischer Fermente im Serum, in dem vorliegenden Falle von Kathepsinen und der Leucin-Aminopeptidase, von mit Chloroquin behandelten Ratten interpretieren zu können, sei zuerst einiges über den biochemischen Angriffspunkt des Chloroquins ausgeführt.

In zahlreichen Untersuchungen konnte eine deutliche Beeinflussung des Fermentstoffwechsels nachgewiesen werden. LACAPÈRE et al. (1954) sowie THEOBALD und DOMENJOZ (1955) stellten eine Hemmung der als "spreading factor" wirkenden Hyaluronidase durch Chloroquin fest, ein Effekt, der nach MATHIES (1959) sowie MATHIES und WILL (1962) durch eine Catecholamin-Ausschüttung aus dem Nebennierenmark bewirkt wird. Des weiteren werden die Enzyme Glutaminsäure-Dehydrogenase (GERLACH, 1958), Monoaminooxydase (KOSZTOLNYIK et al., 1959), Diaminooxydase, Cholinesterase, Cytochrom-Reduktase (Warburg'sches Atmungsferment), Adenosin-

triphosphatase (RICHTER u. CROFT, 1942), Diaphorase (HAAS, 1944; HELLERMAN, LINDSAY u. BOVARNICK, 1946; GUGGENHEIM u. SHAMIR-ZERNIK, 1953; HAUSCHILD, 1956), Pankreas-Lipase (NAGY u. KOCSAR, 1956), Cocarboxylase (SILVERMAN, 1949), Desoxyribonuclease (KURNICK u. RADCLIFFE, 1957) durch Chloroquin inhibiert.

An Rattenleber-Mitochondrien wurde unter dem Einfluß von Chloroquin eine Hemmung der Atmungskette nachgewiesen, wobei gleichzeitig die oxydative Phosphorylierung beeinflußt wird, was sich in einer verringerten ATP-Synthese ausdrückt (GREILING u. DÖRNER, 1962). Wie SIMON (1961) bei Untersuchungen an der Rattenleber zeigen konnte, unterdrückt Chloroquin die Aktivität von Enzymen des Citronensäurecyclus, der biologischen Endoxydation, des Adenylsäuresystems sowie des Protein-, Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsels. Ein Hinweis auf den Mechanismus einer derartigen Enzym-Inhibition durch Chloroquin ergab sich aus der Tatsache, daß ein solcher Hemmeffekt nicht nur bei Fermenten, sondern darüber hinaus auch für SH-Gruppen beobachtet werden konnte. Sämtliche von diesem Autor untersuchten Fermente mit Ausnahme der 5-Nucleotidase hatten SH-Gruppen als Wirkungszentrum für ihre volle Funktion nötig, so daß die Hemmung dieser Enzyme durch Chloroquin auf einer Blockierung der SH-Gruppen beruhen dürfte.

Demgegenüber wurde aber auch von BIELICKY, SONKA und MALINA (1964) sowie BIELICKY, MALINA und SONKA (1965) in vitro und in vivo die Aktivierung eines Stoffwechselweges, nämlich des Pentose-Phosphatcyclus beobachtet.

Ohne Energieproduktion ist eine Zelle nicht lebensfähig. Selbst wenn keinerlei Synthese-Leistungen vollbracht werden, die der Ausübung bestimmter Zellfunktionen oder der Zellvermehrung dienen sollen, ist doch bereits ein Mindestmaß an Energielieferung erforderlich, um nur die Struktur der Zelle aufrecht zu erhalten.

Da nun durch die Enzym-inhibierende Wirkung des Chloroquins die beiden wichtigsten, zur Aufrechterhaltung der Zellintegrität notwendigen energieliefernden Stoffwechselwege, nämlich die Glykolyse und die Atmung, betroffen werden, läßt sich somit eine Schädigung der Zellmembran oder auch eine Zerstörung der Zellstruktur, auf die vorangehend schon hingewiesen wurde, zwanglos erklären. Hierbei werden die Kathepsine, die unter physiologischen Bindungen an verschiedenen Orten der Zelle in inaktiver Form vorliegen, aktiviert und in das umliegende Gewebe ausgeschüttet. Derartige autolytische Vorgänge führen gleichzeitig infolge einer p_H -Verschiebung zur Gewebsacidose (s. hierzu LETTERER, 1959). Da hierbei das Optimum der Kathepsine erreicht wird, ist die Möglichkeit eines Angriffs der Kathepsine auf das nicht im Fibrillenverband integrierte NLK gegeben.

So wurde auch für die Kathepsine gezeigt, daß eine gesteigerte Aktivität in der Nachbarschaft von Tumorgewebe eine Erhöhung des Serum-Kathepsin-Spiegels zur Folge hat (LIBENSON u. JENA, 1957). Wenn auch eine Bestimmung der Kathepsine im Blut wegen der dort vorliegenden p_H -Verhältnisse nur Rückschlüsse auf ihre Quantität, nicht aber auf ihre Aktivität gestattet, so liegt doch die Annahme nahe, daß die Kathepsine z.B. im Hautbindegewebe, in dem ja, wie vorangehend schon ausgeführt, infolge autolytischer Vorgänge rasch das erforderliche p_H -Optimum erreicht wird, ihre volle proteolytische Aktivität entfalten.

Auf Grund der erhöhten Kathepsin- und Leucin-Aminopeptidase-Aktivität im Serum von mit Chloroquin behandelten Ratten ergibt sich somit als Schlußfolge, daß unter dem Einfluß dieses Chinolin-Derivates durch eine Hemmung des Energiestoffwechsels der Zelle eine Desintegration der Zellstruktur bzw. Zellmembran eintritt, wodurch zelleigene Proteasen in das angrenzende Bindegewebe der Haut eindringen und dort in den Abbau der neutralsalzlöslichen Kollagenfraktion eingreifen. Da die Bestimmung des aktiven Trypsins nach Verabfolgung der hier untersuchten bindegewebswirksamen Substanzen keinen Unterschied im Serum von Ratten ergab, erübrigt sich eine Diskussion dieser Befunde.

VII. Zusammenfassung

Untersuchungen über die Wirkung von β -Amino-propionitril, Progesteron und Chloroquin auf den Kollagenstoffwechsel der Rattenhaut ergaben, daß unter der Einwirkung dieser drei bindegewebswirksamen Substanzen eine deutliche Vermehrung des neutralsalzlöslichen Kollagens sowie ein verstärkter Abbau dieser Kollagenfraktion erfolgt. An diesem verstärkten Abbau, der unter β -Amino-propionitril- und Progesteron-Behandlung vermehrt anfallenden neutralsalzlöslichen Kollagene sind auch Fermente vom Typ der Kathepsine beteiligt.

In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb überprüft, ob eine entsprechende Erhöhung der Kathepsin-Aktivität auch nach Gaben von Chloroquin feststellbar ist. Weiterhin wurde untersucht, ob auch andere Proteasen nach Verabfolgung dieser drei bindegewebswirksamen Substanzen vermehrt vorkommen.

Es wurden folgende Resultate erhalten:

1. Im Serum von Ratten kommt es nach Chloroquin-Behandlung zu einer "statistisch signifikanten" Erhöhung der Kathepsin-Aktivität, die durchschnittlich 165 % beträgt.
2. Der Leucin-Aminopeptidase-Gehalt im Rattenserum

ist beim experimentellen Lathyrismus um 34 %, nach Verabfolgung von Progesteron und Chloroquin um 25 % bzw. 20 % erhöht.

3. Eine signifikante Vermehrung der Trypsin-Aktivitäten im Serum nach Gaben dieser drei bindegewebswirksamen Substanzen ist nicht nachweisbar.

Die Bedeutung dieser Befunde für den Kollagenstoffwechsel hinsichtlich Angriffspunkt und Wirkungsmechanismus dieser drei genannten bindegewebswirksamen Substanzen und ihre therapeutische Wirkungsweise wird erörtert.

Tabelle 3 a

Ermittlung der Einzelwerte der Kathepsinaktivitäten im Serum von mit Chloroquin behandelten Ratten und von Kontrolltieren zu Tab. 3

lfd. Nr.	Extinktion 1 ml Serum	mMol/freigesetztes Tyrosin/Ansatz	Kathepsin-Aktivität*
1. Kontrolltiere:			
1	0,050	0,053	4,7
2	0,050	0,053	4,7
3	0,020	0,021	1,9
4	0,017	0,018	1,6
5	0,005	0,005	0,4
6	0,020	0,021	1,9
7	0,018	0,019	1,7
8	0,042	0,044	3,9
9	0,028	0,030	2,7
10	0,010	0,011	1,0
11	0,017	0,018	1,6
12	0,050	0,053	4,7
13	0,030	0,032	2,8
14	0,024	0,025	2,2
15	0,010	0,011	1,0
2. Chloroquintiere:			
1	0,170	0,178	15,8
2	0,070	0,073	6,5
3	0,075	0,079	7,0
4	0,100	0,105	9,3
5	0,150	0,157	13,9
6	0,160	0,168	15,0
7	0,065	0,068	6,0
8	0,032	0,034	3,0
9	0,030	0,032	2,8
10	0,040	0,042	3,7
11	0,030	0,032	2,8
12	0,025	0,026	2,3
13	0,033	0,035	3,1
14	0,027	0,029	2,6
15	0,037	0,039	3,5

* 10^{-6} mMol freigesetztes Tyrosin/10 min/ml Serum

Tabelle 3 b

Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung
und der Standardabweichung des Mittelwertes zu Tab. 3

a) Kontrolltiere

lfd. Nr.	x_i	$\bar{x}$	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$	$\sum (x_i - \bar{x})^2$
1	4,7	2,45	2,26	5,1076	28,7651
2	4,7		2,26	5,1076	
3	1,8		0,58	0,3364	
4	1,6		0,85	0,7225	
5	0,4		2,01	4,0401	
6	1,8		0,58	0,3364	
7	1,7		0,76	0,5776	
8	4,0		1,46	2,1316	
9	2,7		0,22	0,0484	
10	1,0		1,47	2,1609	
11	1,6		0,85	0,7225	
12	4,7		2,26	5,1076	
13	2,8		0,39	0,1521	
14	2,2		0,23	0,0529	
15	1,0		1,47	2,1609	

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{28,7651}{14}} = \sqrt{2,05465} = \pm 1,43$$

$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n \cdot (n-1)}} = \sqrt{\frac{28,7651}{15 \cdot 14}} = \sqrt{0,13697} = \pm 0,37$$

Tabelle 3 b (Fortsetzung)

b) Chloroquin-Tiere

lfd. Nr.	x_i	$\bar{x}$	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$	$\sum (x_i - \bar{x})^2$
1	15,82	6,50	9,32	86,8624	322,3599
2	6,5		0,01	0,0001	
3	7,0		0,52	0,2704	
4	9,3		2,83	8,0089	
5	13,9		7,46	55,6516	
6	14,9		8,44	71,2336	
7	6,0		0,45	0,2025	
8	3,0		3,48	12,1104	
9	2,8		3,66	13,3956	
10	3,7		2,77	7,6729	
11	2,8		3,66	13,3956	
12	2,3		4,19	17,5561	
13	3,1		3,39	11,4921	
14	2,6		3,92	15,3664	
15	3,5		3,03	9,1809	

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{322,3599}{14}} = \sqrt{23,0257} = \pm 4,80$$

$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n \cdot (n-1)}} = \sqrt{\frac{322,3599}{15 \cdot 14}} = \sqrt{1,53504} = \pm 1,24$$

Tabelle 3 c

Wilcoxonstest für unverbundene Stichproben zu Tab. 3

		Kontrolle		Chloroquin	
		Konz. Rangzahl		Konz. Rangzahl	
1	0,44 (N)	0,44	1		
2	0,98 (N)	0,98	2,5		
3	0,98 (N)	0,98	2,5		
4	1,60 (N)	1,60	4,5		
5	1,60 (N)	1,60	4,5		
6	1,69 (N)	1,69	6		
7	1,87 (N)	1,87	7,5		
8	1,87 (N)	1,87	7,5		
9	2,22 (N)	2,22	9		
10	2,31 (C)			2,31	10
11	2,58 (C)			2,58	11
12	2,67 (N)	2,67	12		
13	2,84 (N)	2,84	14		
14	2,84 (C)			2,84	14
15	2,84 (C)			2,84	14
16	3,02 (C)			3,02	16
17	3,11 (C)			3,11	17
18	3,47 (C)			3,47	18
19	3,73 (C)			3,73	19
20	3,91 (N)	3,91	20		
21	4,71 (N)	4,71	22		
22	4,71 (N)	4,71	22		
23	4,71 (N)	4,71	22		
24	6,05 (C)			6,05	24
25	6,49 (C)			6,49	25
26	7,02 (C)			7,02	26
27	9,33 (C)			9,33	27
28	13,96 (C)			13,96	28
29	14,94 (C)			14,94	29
30	15,82 (C)			15,82	30
Summe der Rangzahlen der Kontrollgruppe: 157					
Signifikanz: $p < 1$					

Tabelle 4 a

Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung
und der Standardabweichung des Mittelwertes zu Tab. 4

a) Normal-Tiere

Lfd. Nr.	x_i	$\bar{x}$	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$	$\sum (x_i - \bar{x})^2$
1	12,3	9,64	2,67	7,1289	51,0166
2	8,3		1,03	1,0609	
3	7,8		1,87	3,5721	
4	8,1		1,54	2,3716	
5	8,4		1,22	1,4884	
6	8,5		1,11	1,2321	
7	7,9		1,76	3,0976	
8	8,7		1,00	1,0000	
9	8,5		1,11	1,2321	
10	8,4		1,22	1,4884	
11	12,8		3,21	10,3041	
12	9,2		0,47	0,2209	
13	12,6		2,99	8,9401	
14	12,1		2,45	6,0025	
15	11,0		1,37	1,8769	

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{51,0166}{14}} = \sqrt{3,6440} = \pm 1,91$$
$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n \cdot (n-1)}} = \sqrt{\frac{51,0166}{15 \cdot 14}} = \sqrt{0,24257} = \pm 0,49$$

Tabelle 4 a (Fortsetzung)

b) BAPN-Tiere

lfd. Nr.	x_i	$\bar{x}$	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$	$\sum (x_i - \bar{x})^2$
1	13,0	12,88	0,08	0,0064	31,0761
2	14,5		1,59	2,5281	
3	10,8		2,08	4,3264	
4	14,0		1,16	1,3456	
5	13,2		0,29	0,0841	
6	12,4		0,46	0,2116	
7	12,3		0,57	0,3249	
8	13,8		0,94	0,8836	
9	12,5		0,36	0,1296	
10	9,7		3,16	9,9856	
11	12,6		0,25	0,0625	
12	15,4		2,56	6,5536	
13	14,5		1,59	2,5281	
14	11,4		1,44	2,0736	
15	13,0		0,18	0,0324	

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{31,0761}{14}} = \sqrt{2,2197} = \pm 1,49$$

$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n \cdot (n-1)}} = \sqrt{\frac{31,0761}{15 \cdot 14}} = \sqrt{0,14798} = \pm 0,38$$

Tabelle 4 a (Fortsetzung)

c) Progesteron-Tiere

lfd. Nr.	x_i	$\bar{x}$	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$	$\sum (x_i - \bar{x})^2$
1	13,0	11,96	1,00	1,0000	17,2159
2	10,6		1,38	1,9044	
3	13,0		1,10	3,4969	
4	13,9		1,97	2,3716	
5	13,2		1,21	1,4641	
6	11,8		0,19	0,0361	
7	12,3		0,35	0,1225	
8	11,4		0,52	0,2704	
9	10,3		1,60	2,5600	
10	11,3		0,62	0,3844	
11	11,7		0,30	0,0900	
12	12,6		0,67	0,4489	
13	10,5		1,49	2,2201	
14	11,2		0,73	0,5329	
15	12,5		0,56	0,3136	

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{17,2159}{14}} = \sqrt{1,2297} = \pm 1,11$$
$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n \cdot (n-1)}} = \sqrt{\frac{17,2159}{15 \cdot 14}} = \sqrt{0,08198} = \pm 0,29$$

Tabelle 4 a (Fortsetzung)

d) Chloroquin-Tiere

lfd. Nr.	x_i	$\bar{x}$	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$	$\sum (x_i - \bar{x})^2$
1	10,8	11,48	0,68	0,4626	40,2445
2	12,7		1,26	1,5876	
3	14,0		2,45	6,0025	
4	13,5		2,02	4,0804	
5	12,9		1,48	2,1904	
6	8,7		2,74	7,5076	
7	11,9		0,40	0,1600	
8	8,8		2,63	6,9169	
9	9,5		1,98	3,9204	
10	13,3		1,80	3,2400	
11	10,5		1,01	1,0201	
12	12,3		0,83	0,6889	
13	11,7		0,18	0,0324	
14	9,9		1,55	2,4025	
15	11,7		0,18	0,0324	

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{40,2445}{14}} = \sqrt{2,8746} = \pm 1,70$$
$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n \cdot (n-1)}} = \sqrt{\frac{40,2445}{15 \cdot 14}} = \sqrt{0,19164} = \pm 0,44$$

Tabelle 4 b

Wilcoxon test für unverbundene Stichproben zu Tab. 4

		Kontrolle		BAPN	
		Konz.	Rangzahl	Konz.	Rangzahl
1	7,77 (N)	7,77	1		
2	7,88 (N)	7,88	2		
3	8,10 (N)	8,10	3		
4	8,31 (N)	8,31	4		
5	8,42 (N)	8,42	5,5		
6	8,42 (N)	8,42	5,5		
7	8,53 (N)	8,53	7,5		
8	8,53 (N)	8,53	7,5		
9	8,64 (N)	8,64	9		
10	9,17 (N)	9,17	10		
11	9,72 (B)			9,72	11
12	10,80 (B)			10,80	12
13	11,01 (N)	11,01	13		
14	11,44 (B)			11,44	14
15	12,09 (N)	12,09	15		
16	12,31 (N)	12,31	16,5		
17	12,31 (B)			12,31	16,5
18	12,42 (B)			12,42	18
19	12,52 (B)			12,52	19
20	12,63 (B)			12,63	20,5
21	12,63 (N)	12,63	20,5		
22	12,85 (N)	12,85	22		
23	12,96 (B)			12,96	23
24	13,06 (B)			13,06	24
25	13,17 (B)			13,17	25
26	13,82 (B)			13,82	26
27	14,04 (B)			14,04	27
28	14,47 (B)			14,47	28,5
29	14,47 (B)			14,47	28,5
30	15,44 (B)			15,44	30
Summe der Rangzahlen der Kontrollgruppe: 142,5					
Signifikanz: p < 1					

Tabelle 4 b (Fortsetzung)

c) Progesteron-Tiere

		Kontrolle		Progesteron	
		Konz.	Rangzahl	Konz.	Rangzahl
1	7,77 (N)	7,77	1		
2	7,88 (N)	7,88	2		
3	8,10 (N)	8,10	3		
4	8,31 (N)	8,31	4		
5	8,42 (N)	8,42	5,5		
6	8,42 (N)	8,42	5,5		
7	8,53 (N)	8,53	7,5		
8	8,53 (N)	8,53	7,5		
9	8,64 (N)	8,64	9		
10	9,17 (N)	9,17	10		
11	10,36 (P)			10,36	11
12	10,47 (P)			10,47	12
13	10,58 (P)			10,58	13
14	11,01 (N)	11,01	14		
15	11,23 (P)			11,23	15
16	11,34 (P)			11,34	16
17	11,44 (P)			11,44	17
18	11,66 (P)			11,66	18
19	11,77 (P)			11,77	19
20	12,09 (N)	12,09	20		
21	12,31 (P)			12,31	21,5
22	12,31 (N)	12,31	21,5		
23	12,52 (P)			12,52	23
24	12,63 (P)			12,63	24,5
25	12,62 (N)	12,62	24,5		
26	12,85 (N)	12,85	26		
27	12,96 (P)			12,96	27
28	13,06 (P)			13,06	28
29	13,17 (P)			13,17	29
30	13,93 (P)			13,93	30
Summe der Rangzahlen der Kontrollgruppe:			161,0		
Signifikanz:			p < 1		

Tabelle 4 b (Fortsetzung)

d) Chloroquin-Tiere

		Kontrolle		Chloroquin	
		Konz.	Rangzahl	Konz.	Rangzahl
1	7,77 (N)	7,77	1		
2	7,88 (N)	7,88	2		
3	8,10 (N)	8,10	3		
4	8,31 (N)	8,31	4		
5	8,42 (N)	8,42	5,5		
6	8,42 (N)	8,42	5,5		
7	8,53 (N)	8,53	7,5		
8	8,53 (N)	8,53	7,5		
9	8,64 (N)	8,64	9		
10	8,74 (C)			8,74	10
11	8,85 (C)			8,85	11
12	9,17 (N)	9,17	12		
13	9,50 (C)			9,50	13
14	9,93 (C)			9,93	14
15	10,47 (C)			10,47	15
16	10,80 (C)			10,80	16
17	11,01 (N)	11,01	17		
18	11,66 (C)			11,66	18,5
19	11,66 (C)			11,66	18,5
20	11,88 (C)			11,88	20
21	12,09 (N)	12,09	21		
22	12,31			12,31	22,5
23	12,31 (N)	12,31	22,5		
24	12,63 (N)	12,63	24		
25	12,74 (C)			12,74	25
26	12,85 (N)	12,85	26		
27	12,96 (C)			12,96	27
28	13,28 (C)			13,28	28
29	13,50 (C)			13,50	29
30	13,93 (C)			13,93	30
Summe der Rangzahlen der Kontrollgruppe: 167,5					
Signifikanz: $p < 1$					

Tabelle 5 a

Berechnung des Mittelwertes, der Standardabweichung
und der Standardabweichung des Mittelwertes zu Tab. 5

a) Normal-Tiere

lfd. Nr.	x_i	$\bar{x}$	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$	$\sum (x_i - \bar{x})^2$
1	13	15,06	2,06	4,2436	1504,9340
2	3		12,06	145,4436	
3	3		12,06	145,4436	
4	16		0,94	0,8836	
5	19		3,94	15,5236	
6	21		5,94	35,2836	
7	27		11,94	142,5636	
8	14		1,06	1,1236	
9	13		2,06	4,2436	
10	19		3,04	15,5236	
11	40		24,94	622,0036	
12	23		7,94	63,0436	
13	6		9,06	82,0836	
14	6		9,06	82,0836	
15	3		12,06	145,4436	

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{1504,9340}{14}} = \sqrt{107,49528} = \pm 10,37$$

$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n \cdot (n-1)}} = \sqrt{\frac{1504,9340}{15 \cdot 14}} = \sqrt{7,16635} = \pm 0,27$$

Tabelle 5 a (Fortsetzung)

b) BAPN-Tiere

lfd. Nr.	x_i	$\bar{x}$	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$	$\sum (x_i - \bar{x})^2$
1	25	14,93	10,07	101,4049	645,7735
2	6		8,93	79,7449	
3	9		5,93	35,1649	
4	19		4,07	16,5649	
5	12		2,93	8,5849	
6	10		4,93	24,3049	
7	14		0,93	0,8649	
8	8		6,93	48,0249	
9	14		0,93	0,8649	
10	10		4,93	24,3049	
11	21		6,07	36,8449	
12	21		6,07	36,8449	
13	30		15,07	227,1049	
14	17		2,07	4,2849	
15	8		6,93	0,8649	

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{645,7735}{14}} = \sqrt{46,12667} = \pm 6,79$$

$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n \cdot (n-1)}} = \sqrt{\frac{645,7735}{15 \cdot 14}} = \sqrt{3,07511} = \pm 0,17$$

Tabelle 5 a (Fortsetzung)

c) Progesteron-Tiere

lfd. Nr.	x_i	$\bar{x}$	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$	$\sum (x_i - \bar{x})^2$
1	27	17,73	9,27	85,9329	876,9335
2	19		1,27	1,6129	
3	18		0,27	0,0729	
4	8		9,73	94,6729	
5	13		4,73	22,3729	
6	25		7,27	52,8529	
7	24		6,27	39,3129	
8	18		0,27	0,0729	
9	10		7,73	59,7529	
10	8		9,73	94,6729	
11	9		8,73	76,2129	
12	22		4,27	18,2329	
13	18		0,27	0,0729	
14	35		17,27	298,2529	
15	12		5,73	32,8329	

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{876,9335}{14}} = \sqrt{62,6381} = \pm 7,91$$

$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n \cdot (n-1)}} = \sqrt{\frac{876,9335}{15 \cdot 14}} = \sqrt{4,17587} = \pm 0,31$$

Tabelle 5 a (Fortsetzung)

d) Chloroquin-Tiere

lfd. Nr.	x_i	$\bar{x}$	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$	$\sum (x_i - \bar{x})^2$
1	5	13,73	8,73	76,2129	1146,9335
2	10		3,73	13,9129	
3	11		2,73	7,4529	
4	33		19,27	371,3329	
5	11		2,73	7,4529	
6	34		20,27	410,8729	
7	7		6,73	45,2929	
8	5		8,73	76,2129	
9	11		2,73	7,4529	
10	13		0,73	0,5329	
11	11		2,73	7,4529	
12	10		3,73	13,9129	
13	21		7,27	52,8529	
14	17		3,27	10,6929	
15	7		6,73	45,2929	

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{1146,9335}{14}} = \sqrt{81,92382} = \pm 9,05$$

$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n \cdot (n-1)}} = \sqrt{\frac{1146,9335}{15 \cdot 14}} = \sqrt{5,46158} = \pm 0,23$$

Tabelle 5 b

Wilcoxon-test für unverbundene Stichproben zu Tab. 5

b) BAPN-Tiere

		Kontrolle		BAPN	
		Konz.	Rangzahl	Konz.	Rangzahl
1	3 (N)	3	2		
2	3 (N)	3	2		
3	3 (N)	3	2		
4	6 (B)			6	5
5	6 (N)	6	5		
6	6 (N)	6	5		
7	8 (B)			8	7,5
8	8 (B)			8	7,5
9	9 (B)			9	9
10	10 (B)			10	10,5
11	10 (B)			10	10,5
12	12 (B)			12	12
13	13 (N)	13	13,5		
14	13 (N)	13	13,5		
15	14 (N)	14	16		
16	14 (B)			14	16
17	14 (B)			14	16
18	16 (N)	16	18		
19	17 (B)			17	19
20	19 (N)	19	21		
21	19 (N)	19	21		
22	19 (B)			19	21
23	21 (B)			21	24
24	21 (B)			21	24
25	21 (N)	21	24		
26	23 (N)	23	26		
27	25 (B)			25	27
28	27 (N)	27	28		
29	30 (B)			30	29
30	40 (N)	40	30		
Summe der Rangzahlen der Kontrollgruppe: 227,0					
Signifikanz: p > 5					

Tabelle 5 b (Fortsetzung)

c) Progesteron-Tiere

		Kontrolle		Progesteron	
		Konz.	Rangzahl	Konz.	Rangzahl
1	3 (N)	3	2		
2	3 (N)	3	2		
3	3 (N)	3	2		
4	6 (N)	6	4,5		
5	6 (N)	6	4,5		
6	8 (P)			8	6,5
7	8 (P)			8	6,5
8	9 (P)			9	8
9	10 (P)			10	9
10	12 (P)			12	10
11	13 (P)			13	12
12	13 (N)	13	12		
13	13 (N)	13	12		
14	14 (N)	14	14		
15	16 (N)	16	15		
16	18 (P)			18	17
17	18 (P)			18	17
18	18 (P)			18	17
19	19 (P)			19	20
20	19 (N)	19	20		
21	19 (N)	19	20		
22	21 (N)	21	22		
23	22 (P)			22	23
24	23 (N)	23	24		
25	25 (P)			25	26
26	27 (P)			27	27,5
27	27 (N)	27	27,5		
28	35 (P)			35	29
29	40 (N)	40	30		
Summe der Rangzahlen der Kontrollgruppe:					
			211,5		
Signifikanz:					
			p > 5		

Tabelle 5 b (Fortsetzung)

d) Chloroquin-Tiere

		Kontrolle		Chloroquin	
		Konz.	Rangzahl	Konz.	Rangzahl
1	3 (N)	3	2		
2	3 (N)	3	2		
3	3 (N)	3	2		
4	5 (C)			5	4,5
5	5 (C)			5	4,5
6	6 (N)	6	6,5		
7	6 (N)	6	6,5		
8	7 (C)			7	8,5
9	7 (C)			7	8,5
10	10 (C)			10	10,5
11	10 (C)			10	10,5
12	11 (C)			11	13,5
13	11 (C)			11	13,5
14	11 (C)			11	13,5
15	11 (C)			11	13,5
16	13 (C)			13	17
17	13 (N)	13	17		
18	13 (N)	13	17		
19	14 (N)	14	19		
20	16 (N)	16	20		
21	17 (C)			17	21
22	19 (N)	19	22,5		
23	19 (N)	19	22,5		
24	21 (C)			21	24,5
25	21 (N)	21	24,5		
26	23 (N)	23	26		
27	27 (N)	27	27		
28	33 (C)			33	28
29	34 (C)			34	29
30	40 (N)	40	30		
Summe der Rangzahlen der Kontrollgruppe: 244,5					
Signifikant: p > 5					

L i t e r a t u r

- ABDERHALDEN, R.: Klinische Enzymologie.
Thieme, Stuttgart 1958
- ADACHI, K. u.
W. MONTAGNA: Histology and cytochemistry
of human skin. XXII. Sites
of Leucine Aminopeptidase
(LAP).
J.invest.Derm. 37, 145-152 (1961)
- ADELMANN, B., H.
MARQUART u. K. KÜHN: Untersuchungen über die nicht-
kollagenen Proteine des Ratten-
hautbindegewebes.
1966 (in Vorbereitung)
- AEBI, H.: Einführung in die praktische Bio-
chemie.
Akademische Verlagsgesellschaft,
Frankfurt/M. 1965
- AHLMARK, A. u.
H. SWANBERG: The effect of progesterone and
gonadotrophins on the histaminase
content of the rabbit endometrium.
Acta endocrin., Kbh. 12, 279-
287 (1953)
- AMMON, R. u.
W. DIRSCHERL: Fermente - Hormone - Vitamine.
Bd. 1 und 2. Thieme, Stuttgart
1959
- ANSON, M.L.: Estimation of Cathepsin with
Hemoglobin and the Purification
of Cathepsin.
J.gen.Physiol. 20, 565-574 (1937)
- ANSON, M.L.: The denaturation of proteins.
In: Les protéines.
Conseil de chimie 9, 201-202
(1953)
- ARST, H.E., R.T. MAN-
NING u. M. DELP: Serum Leucine Aminopeptidase
Activity: Findings in Carcinoma
of the Pancreas, Pregnancy and
other Disorders.
Amer.J.Med.Sci. 238, 120-131,
598-609 (1959)

- ASCHKENASY, A., M.
AUFFRET u. M. PIETTE: Phosphatases alcalines de l'os et de la moelle osseuse dans l'osteolathyrisme. C.R.Soc.Biol., Paris 153, 563-569 (1959)
- BANKS, B.M., E.P.
PINEDA, I.A. GOLDBARG u. A.M. RUTENBURG: Clinical value of serum leucine aminopeptidase determination. New Engl.J.Med. 263, 1277-1281 (1960)
- BAZIN, S. u. A.
DELAUNAY: Altérations de la trame conjunctive de cause enzymatique sur des modifications biochimiques produites in vitro. Ann.Inst.Pasteur, Paris 106, 819-827 (1964)
- BERGMANN, M. u. H.
FRAENKEL-CONRAT: Role of specificity in the enzymatic synthesis of proteins. J.Biol.Chem. 119, 707-720 (1937)
- BERGMANN, M. u. I.S.
FRUTON: The specificity of proteinases. Advanc.Enzymol. 1, 63-98 (1941)
- BERGMANN, M., I.S.
FRUTON u. H. POLLOCK: Specificity of Trypsin. J.Biol.Chem. 127, 643-648 (1939)
- BESSIS, M.: Die Zelle im Elektronenmikroskop. Sandoz-Monographien 15-32 (1960)
- BIELICKY, T., L. MALINA u. J. SONKA: The effect of chloroquine on glucose metabolism in erythrocytes of patients with chronic Lupus Erythematosus. Acta dermat.-vener. 45, 218-220 (1965)
- BIELICKY, T., J. SONKA u. L. MALINA: Effect of quinacrine and chloroquine on the pentose cycle in human erythrocytes in vitro in relation to psoriasis. Acta dermat.-vener. 44, 273-277 (1964)
- BRAUN, P., M. PAPP,
E.P. NEMETH u. I.
HORVATH: Serum leucine aminopeptidase activity: clinical and experimental studies. Gastroenterologia 95, 57-60 (1961)
- BRAUN-FALCO, O.: Über die Histotopographie der Aminopeptidase bei Hauttumoren. Klin.Wschr. 35, 50-51 (1957)

- BRAUN-FALCO, O.: Beitrag zum Verhalten der Grundsubstanz bei malignen epithelialen Hauttumoren. Derm.Wschr. 135, 417-427 (1957)
- BRAUN-FALCO, O.: Die Histochemie der Haut. In: Gottron-Schönfeld, Bd. I. Dermatologie und Venerologie. Thieme, Stuttgart 1961, 456-459
- BRAUN-FALCO, O. u. K. SALFELD: Über das Verhalten der Leucin-Amino-peptidase-Aktivität im Blutserum und Blaseninhalt. Arch.klin.exp.Derm. 204, 407-415 (1957)
- BRAUN-FALCO, O., K. SALFELD u. F. BRAUN-FALCO: Über das Verhalten der Leucin-Amino-peptidase-Aktivität im Blutserum bei Patienten mit malignen Tumoren im Mund- und Halsbereich. Klin.Wschr. 37, 231-234 (1959)
- BROWN, M.E.: Serum exopeptidase activity in diseases of the pancreas. New Engl.J.Med. 260, 331-332 (1959)
- BRUNS, F.H., E. BROSS-WITZ, H. DENNEMANN, H.D. HORN u. E. NOLTMANN: Studien über die Ursachen des Enzymverlustes der geschädigten Zelle. Klin.Wschr. 39, 342-346 (1961)
- BÜCHER, Ph., E. SCHMIDT u. F.W. SCHMIDT: Serum pattern of "key pathway" enzymes. 9th Middle East Med. Ass., Beirut 1959, zit. n. KLINGMÜLLER, V.: Enzyme bei den Leberfunktionsprüfungen. Dtsch.med.J. 13, 78-82 (1962)
- BUNDY u. MEHL: zit. n. KALLOS, I., D. KAHN u. D. RIZOK: A new colorimetric method for serum trypsin determination. Canad.J.Biochem. 42, 235-241 (1964)
- CASTELLANI, A.A. u. C. CASTELLANI-BISI: Decrease in hexosamine content of epiphyseal plates in experimental lathyrism. Proc.Soc.exp.Biol.Med. 98, 318-320 (1958)

- CHURCHILL, D.W., S. Alterations in polysaccharides
GELFANT, J.J. LALICH u. and elastic fibres in the
D.M. ANGEVINE: aortas of rats fed with toxic
lathyrus factor.
Lab.Invest. 4, 1-8 (1955)
- CONAN, N.J.: Chloroquine in amebiasis.
Amer.J.Trop.Med.Hyg. 28, 107-
110 (1948)
- CONAN, N.J.: The treatment of hepatic
amebiasis with chloroquine.
Amer.J.Med. 6, 309-320 (1949)
- CULLEN, B.M. u. R.D. The effect of hormones on the
HARKNESS: physical properties and collagen
content of the rat's uterine
cervix.
J.Physiol. 152, 419-436 (1960)
- DIXON, M. u. E.C. WEBB: Enzymes, 2nd ed.
Longmans, London 1964
- DOERR, W.: Experimenteller Lathyrismus.
Verh.dtsch.Ges.Path. 44, 145-
151 (1960)
- DOERR, W., A.J. ROSSNER Experimentelle Mesenchymschäden
u. W. SCHREIL: durch Lathyrus odoratus.
Arch.klin.Chir. 294, 426-449
(1960)
- DOMENJOZ, R. u. W. Antimalarials in rheumatoid
THEOBALD: arthritis.
Experientia, Basel 14, 33-34
(1958)
- DOMENJOZ, R. u. W. Polyarthrititsbehandlung mit
THEOBALD: synthetischen Malariamitteln.
Experientia, Basel 14, 293-297
(1958)
- ENGLHARDT-GÖLKE, A.: Grenzen und Möglichkeiten der
Untersuchung DPN-abhängiger
Serumenzyme, zur Beurteilung
pathologischer Stoffwechsel-
prozesse in der Klinik.
In: MÜLLER, W.A.: Klinische
Physiologie.
Thieme, Stuttgart 1963, 371-383

- FAINSTAT, T.: Hormonal Basis for Collagen Bundle Generation in Uterine Stroma: Extra-cellular Studies of Uterus. Endocrinology 71, 878-887 (1962)
- FASOLD, H.: Enzyme: Struktur, Wirkung und Biosynthese. Med.Welt 2, 83-93 (1964)
- FASSKE, E.: Enzymhistochemische Untersuchungen beim experimentellen Neurolathyrismus. Frankf.Z.Path. 72, 419-427 (1963)
- FLOCH, M.H. u. V.W. GROISSER: Serum proteolytic enzyme activity in pancreatic disease. New Engl.J.Med. 263, 1129-1130 (1960)
- FORELL, M.M. u. W. DOBOVICNIK: Untersuchungen über die Hemmfähigkeit des Blutes gegenüber Trypsin und deren Beeinflussung durch die i.v. Verabreichung des Kallikrein- und Trypsin-Drüseninaktivators. Blut 7, 136-142 (1961)
- FORELL, M.M. u. H. STAHLHEBER: Über die Wirkung von Sekretin und Pankreozymin auf die exkretorische Pankreasfunktion und ihre diagnostische Anwendungsmöglichkeit. Klin.Wschr. 42, 675-679 (1964)
- FRUTON, J.S.: The synthesis of peptides. Advanc.Protein Chem. 5, 1-82 (1949)
- GEIS, A.F., A.P. SANTO-MAURO, M. MEESE u. P. WELS: Effect of serum albumin on enzyme activity in experimental hemorrhagic pancreatitis in dogs. Amer.J.Surg. 92, 891-897 (1960)
- GERLACH, U.: Kinetische Untersuchungen zur Wirkung von Resochin auf das Glutaminsäuredehydrogenase-System. Klin.Wschr. 36, 276-278 (1958)

- GÖGGEL, K.H., W. CREUTZFELDT u. J. MURUCAS: Das Verhalten der Leucinamino-peptidase und anderer Enzyme bei Leber-, Gallen- und Pankreaserkrankungen. Dtsch.med.Wschr. 85, 1756-1762, 1808-1816 (1960)
- GOLDBARG, J.A., E.P. PINEDA, E.E. SMITH, O.M. FRIEDMAN u. A.M. RUTENBURG: A method for the colorimetric determination of γ -glutamyl-transpeptidase in human serum; enzymatic activity in health and disease. Gastroenterology 44, 127-133 (1963)
- GREEN, M.N., K.C. TSOU, R. BRESSLER u. A.M. SELIGMAN: The colorimetric determination of leucine-aminopeptidase-activity with L-leucyl- β -naphthylalaninhydrochloride. Arch.Biochem. 57, 458-474 (1955)
- GREILING H. u. G. DÖRNER: Biochemische Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus des Resochins. Z.Rheumaforsch. 21, 316-324 (1962)
- GRIES, G. u. J. LINDNER: Vergleichende Untersuchungen über den Kollagenabbau in entzündeten und lathyristisch veränderten Geweben. Med.Klin. 58, 2147-2148 (1963)
- GUGGENHEIM, J. u. R. SHAMIR-ZERNIK: The riboflavin-sparing action of atabrine. J.Biol.Chem. 202, 331-337 (1953)
- GULLICK, H.D.: Increased Plasma proteolytic activity due to arginine amidase in patients with pancreatitis. New Engl.J.Med. 268, 851-857 (1963)
- HAAS, E.: The effect of atabrine and quinine on isolated respiratory enzymes. J.Biol.Chem. 155, 321-331 (1944)

HABBE, K. u. W.
PFOERTNER:

Untersuchungen über Beeinflussung der Serumcholinesterase durch Keimdrüsenhormone.
Dtsch.med.Wschr. 76, 269-270 (1951)

HABERLAND, G.L.:

Pharmakologische und biochemische Untersuchungen über Resochin und andere antirheumatisch wirkende Substanzen.
Resochin-Symposion 10-19 (1960)

HABERLAND, G.L., L.
BUSCH, W. FINK u. H.
FRIEDRICH:

Pharmakologische Untersuchungen zur Wirkungsweise von Anti-phlogistica.
Z.Rheumaforsch. 18, 220-232 (1959)

HARKNESS, M.L.R. u.
R.D. HARKNESS:

Further observations on collagen in regenerating liver of rat.
J.Physiol. 123, 482-491 (1954)

HARKNESS, M.L.R. u.
R.D. HARKNESS:

Collagen content of reproductive tract of rat during pregnancy and lactation.
J. Physiol. 123, 492-500 (1954)

HARTMANN, F.:

Klinische Pathologie der enzymatischen Organisation.
In: Klinik der Gegenwart.
Urban & Schwarzenberg, München-Berlin. Bd. 10, 511-550 (1960)

HARTMANN, F. u. U.
BLEYL:

Fluoreszenzmikroskopische Analyse der Lathyruswirkung an der Aorta des Hausschweins.
Beitr.path.Anat. 126, 49-56 (1962)

HARTMANN, F. u. K.
SEIFERT:

Hexosaminbestimmungen bei experimentellem Lathyrismus.
Klin.Wschr. 40, 1156-1158 (1962)

HARTMANN, F., K. SEIFERT
u. F. BÖLSING:

Experimenteller Lathyrismus. Modell einer generalisierenden Mesenchymerkrankung.
Z.Zellforsch. 59, 358-394 (1963)

HAUSCHILD, E.:

Grundlagen der Toxikologie.
Thieme, Leipzig 1956

- HELLERMAN, L., A.L. Flavoenzyme catalysis.
LINDSAY u. M.R. J.Biol.Chem. 163, 553-570
BOVARNICK: (1946)
- HELPAP, B.: On the management of endo-
metriosis with ethynyl
nortestosterone acetate.
Geburtsh.Frauenheilk. 23,
539-544 (1963)
- HESS, B.: Über Fermente der Glykolyse
und des Citronensäurecyclus
im menschlichen Serum insbe-
sondere bei Erkrankungen der
Leber.
Verh.dtsch.Ges.inn.Med.,
63. Kongreß, München 1957,
541-545
- HOFF, F.: Klinische Physiologie und
Pathologie.
Thieme, Stuttgart 1952, 324-
326
- HOFFMANN-OSTENHOF, O.: Enzymologie.
Springer, Wien 1954
- HOLZMANN, H., G.W. Quantitative Bestimmung der
KORTING, F. HAMMERSTEIN, einzelnen Kollagenfraktionen
K.H. STECHER, M. DURRUTI, der Haut nach Anwendung von
P. IWANGOFF u. K. KÜHN: Resochin und Progesteron.
Naturwiss. 51, 310-311 (1964)
- HOLZMANN, H., G.W. Bestimmung der Myokinase und
KORTING u. B. MORSCHES: der Kreatin-Phosphokinase im
Serum bei experimentellem
Lathyrismus, bei Dermatomyositis
und bei progressiver Skleroder-
mie.
Arch.klin.exp.Derm. 223, 319-
327 (1965)
- HOLZMANN, H., G.W. Zur Therapie der Sklerodermie
KORTING u. B. MORSCHES: mit Gestagenen.
Hautarzt 16, 456-458 (1965)
- HOLZMANN, H., G.W. Kathepsinbestimmung im Serum
KORTING u. B. MORSCHES: bei lathyritischen und mit
Prednison behandelten lathyri-
tischen Ratten.
Naturwiss. 52, 308-309 (1965)

- HOLZMANN, H., G.W.
KORTING u. B. MORSCHES: Bestimmung von Sorbis-Dehydrogenase und Kreatin-Phosphokinase im Serum von lathyritischen und mit Prednison behandelten lathyritischen Ratten. Naturwiss. 52, 499-450 (1965)
- HOLZMANN, H., B.
MORSCHES u. G.W. KORTING: Kathepsinbestimmung im Serum von Ratten nach Gaben von Progesteron sowie Progesteron und Prednison. Z.exp.Med. 139, 810-813 (1965)
- HOOFF, A. van den,
C.L. LEVENE u. J. GROSS: Morphologic evidence for collagen changes in chick embryos treated with β -aminopropionitrile. J.exp.Med. 110, 1017-1022 (1959)
- JANOWITZ, H.D. u. F.
HOLLANDER: Exocrine-endocrine partition of enzymes in digestive tract. Gastroenterology 17, 591-593 (1951)
- JONES Jr., H.W. u. R.
WADE: The effect of progesterone on rate of phosphate release from adenosine tri-phosphate by rat liver homogenates. Science 118, 103-107 (1953)
- KALLOS, I., D. KAHN u.
D. RIZOK: A new colorimetric method for serum trypsin determination. Canad.J.Biochem. 42, 235-241 (1964)
- KARLSON, P.: Biochemie. Thieme, Stuttgart 1966
- KARNOVSKY, M.J.: Effects of lathyrogenic agents on glycogen in epiphyseal cartilage. Lab.Invest. 9, 639-655 (1960)
- KARNOVSKY, M.J. u. M.L.
KARNOVSKY: Metabolic effects of lathyrogenic agents on cartilage in vivo and in vitro. J.exp.Med. 113, 381-403 (1961)
- KEITH, L.M., J.E. BARNES
u. F.R. DENKEWALTER: Experimental study of interstitial injection of trypsin and trypsinogen into pancreas. Arch.Surg. 77, 416-420 (1958)

- KENNEDY, J.S. u. G.D.C. Autoradiographic studies in
KENNEDY: experimental lathyrism.
J.Path.Bact. 84, 123-135 (1962)
- KLASCHKA, F.: Untersuchungen zur autolyti-
schen und heterolytischen
Aktivität der Proteasen normaler
und pathologisch veränderter
menschlicher Epidermis und Cutis.
I. Arch.klin.exp.Derm. 215, 137-
150 (1962)
- KLEMPERER, P., A.D. Diffuse collagen disease;
POLLACK u. G. BAEHR: acute disseminated lupus
erythematosus and diffuse
scleroderma.
J.amer.med.Ass. 119, 331-332
(1942)
- KLINGE, F.: Handbuch der speziellen
pathologischen Anatomie und
Histologie. 9, II.
Springer, Berlin 1934
- KLINGMÜLLER, V.: Enzyme bei den Leberfunktions-
prüfungen.
Dtsch.med.J. 13, 78-82 (1962)
- KOKOT, F. u. C.A. Über das Verhalten der
CEKÁNSKI: γ -Glutamyl-Transpeptidase
(GGTP) und Leucyl-aminopeptidase
(LAP) in Geburtshilfefällen.
Zbl.Gynäk. 85, 1638-1643 (1963)
- KOLLER, S.: Statistische Auswertungsmetho-
den.
In: RAUEN, "Biochemisches Ta-
schenbuch" II.
Springer, Berlin-Göttingen-
Heidelberg 1964
- KORTING, G.W.: Über keloidartige Sklerodermie
nebst Bemerkungen über das
etagenmäßige differente Verhal-
ten von einigen sklerodermi-
schen Krankheitszuständen.
Arch.klin.exp.Derm. 198, 306-
318 (1954)
- KORTING, G.W. u. H. Zur Hydroxyprolin-Ausscheidung
HOLZMANN: im Harn von Hautkranken.
Klin.Wschr. 43, 361-364 (1965)

- KORTING, G.W., H. HOLZ-
MANN u. K. KÜHN: Biochemische Bindegewebs-
untersuchungen in Analogie
zum Sklerodermie-Problem.
Med. Welt 1964, 1751-1756
- KORTING, G.W., H. HOLZ-
MANN u. K. KÜHN: Die Lokalreaktionen auf
Hyaluronidase, Prednisolon
und Resochin in der Cutis und
Subcutis der Ratte.
Arch.klin.exp.Derm. 209, 279-
292 (1959)
- KORTING, G.W., H. HOLZ-
MANN u. K. KÜHN: Biochemische Bindegewebs-
analysen bei progressiver
Sklerodermie.
Klin.Wschr. 42, 247-248 (1964)
- KORTING, G.W., H. HOLZ-
MANN u. B. MORSCHES: Enzymatic Determination in
Serum of Lathyric and Prednisone-
treated Lathyrus Rats.
Nature 209, 1130 (1966)
- KOSZTOLNYIK, J., B.
TAKACS, M. SZATMARI u.
G. GAIZLER: A chloroquin származékok
alkalmazása a spondylarthrititis
ankylopoetica és az arthropathia
psoriatica kezelésében.
Orv.Hetil. 100, 1574-1578 (1959)
- KÜHN, K.: Der Stoffwechsel des Kollagens
unter Einfluß von β -Amino-
propionitril und Prednison.
Beitr.Silikose-Forsch. 6,
167-175 (1965)
- KÜHN, K. M. DURRUTI, P.
IWANGOFF, F. HAMMERSTEIN, K.H. STECHER, H. HOLZ-
MANN u. G.W. KORTING: Untersuchungen über den Stoff-
wechsel des Kollagens. I.
Der Einbau von 14 -C-Glycin in
Kollagen bei lathyritischen
Ratten.
Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem.
336, 4-12 (1964)
- KÜHN, K., F. HAMMERSTEIN, K.H. STECHER, M. DURRUTI,
P. IWANGOFF, H. HOLZMANN u. G.W. KORTING: Untersuchungen über den Stoff-
wechsel des Kollagens. IV.
Der Einbau von 14 -C-Glycin in
Kollagen bei mit Resochin be-
handelten Ratten.
Biochem.Z. 1966 (im Druck)

- KÜHN, K., H. HOLZMANN
u. G.W. KORTING: Quantitative Bestimmung der löslichen Kollagenvorstufen nach Anwendung einiger Binde-gewebstherapeutika. Naturwiss. 49, 134-135 (1962)
- KÜHN, K., J. KÜHN u.
P. FIETZEK: Die Einwirkung von proteolyti-schen Enzymen auf unlösliches Kollagen. Naturwiss. 50, 12-14 (1963)
- KÜHN, K., G. SCHUPPLER
u. J. KÜHN: Veränderungen im Verhalten des Kollagens mit zunehmender Reinigung und nach Behandlung mit proteolytischen Enzymen. Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem. 338, 10-31 (1964)
- KÜHN, K., K. STECHER, P.
IWANGOFF, F. HAMMERSTEIN,
M. DURRUTI, H. HOLZMANN
u. G.W. KORTING: Studies on the metabolism of collagen, III. The incorporation of (¹⁴C)-glycine into the collagen of rats treated with progesterone. Biochem.Z. 343, 528-536 (1965)
- KULONEN, E.: On the biochemistry of collagen. Duodecim 79, 723-730 (1963)
- KURNICK, N.B. u. J.E.
RADCLIFFE: Interaction between des-oxyribonuclein acid and quinacrine: effect on de-hydrogenase susceptibility. Clin.Resp.Proc. 5, 33-47 (1957)
- KUSCHINSKY, G. u. H.
LÜLLMANN: Pharmakologie. Thieme, Stuttgart 1964
- LACAPÈRE, J., H. MONIER
u. G. VIAL: Essais de Traitement des Rhumatismes Chroniques par un Antimalarique de Synthèse dérivé de la Chinaleine. Rev.Rheum. 21, 389-394 (1954)

- LANG, K., G. SIEBERT,
J. BALDUS u. A. COEBET: Über das Vorkommen von
Desoxyribonuclease und
Kathepsin in Zellkernen
aus Nieren.
Experientia 6, 59-62 (1950)
- LEONHARDI, G.: Stand der Fermentforschung
auf dem Gebiete der Derma-
tologie.
Arch.klin.exp.Derm. 211,
75-104 (1960)
- LEROY, E.C., A. KAPLAN,
S. UDENFRIEND u. A.
SJOERDSMA: A hydroxyproline-containing,
collagen-like protein in
plasma and a procedure for
its assay.
J.Biol.Chem. 239, 3350-3356
(1964)
- LEROY, E.C. u. A.
SJOERDSMA: Clinical Significance of a
Hydroxyproline-containing
Protein in Human Plasma.
J.clin.Invest. 44, 914-919
(1965)
- LETTERER, E.: Allgemeine Pathologie.
Thieme, Stuttgart 1959, 153
- LEVENE, C.J. u. J. GROSS: Alteration in connective
tissue properties in the
lathyric chick embryo.
Fed.Proc. 18, 90-97 (1959)
- LEVENE, C.J. u. J. GROSS: Alterations in state of
molecular aggregation of col-
lagen induced in chick embryos
treated with β -aminopropio-
nitrile.
J.exp.Med. 110, 771-790 (1959)
- LIBENSON, L. u. M. JENA: Catheptic activity of blood
serum in cancer.
Cancer 10, 1004-1007 (1957)
- LIPP, R.: Untersuchungen über den Hemm-
effekt des Chloroquin (Reso-
chin(R)) auf die Zellprolife-
ration in vitro.
Arch.klin.exp.Derm. 218,
228-243 (1964)

- LIPSCHÜTZ, A., D.
JADRIJEVIC, E. MARDONES,
S. FIGUEROA u. S.
GIRARDI: Comperative antioestrogenic
potencies of progesterone and
esterified 17-ahydroxyprogesterone
in the guinea pig.
J.Endocr. 15, 248-254 (1957)
- LUTWAK-MANN u. ADAMS: J.Endocr. 15, 43 (1957),
zit.n. AMMON, R. u. W.
DIRSCHERL:
Fermente - Hormone - Vitamine.
Bd. 2.
Thieme, Stuttgart 1960
- MARTIN, G.R., S.E.
MERGENHAGEN u. D.J.
PROCKOP: Influence of Scurvy and
Lathyrism (Odoratism) on
Hydroxyproline Excretion.
Nature, Lond. 191, 1008-1009
(1961)
- MATHIES, H.: Tierexperimentelle Untersu-
chungen zur Hyaluronidase-
hemmenden Wirkung der Anti-
rheumatika.
Z.Rheumaforsch. 18, 205-211
(1959)
- MATHIES, H. u. E. WILL: Zum Mechanismus der spreading-
hemmenden Wirkung des Chloro-
quins.
Arzneimittelforsch. 12, 694-
698 (1962)
- MAYER, M.E. u. A.E. GRECO: The intracellular distribution
of cathepsin, benzoylarginine
amidase and leucine amidase
activities in normal rat tissues
and primary rat hepatoma.
J.nat.Cancer Inst. 12, 37-48
(1951)
- MILLER, A.L. u. L.
WORSLEY: Serum leucine aminopeptidase
in carcinoma of pancreas and
other diseases.
Brit.Med.J. 12, 1419-1422
(1960)
- MORSCHES, B., H. HOLZ-
MANN u. G.W. KORTING: Untersuchungen zum quantitati-
ven Verhalten von Kollagen und
nicht-kollagenem Eiweiß in
der menschlichen Haut in Ab-
hängigkeit von Alter und Loka-
lisation.
Arch.klin.exp.Derm. 224, 117-
127 (1966)

- MOR, M.A.: ATP-ase Activity of Myofibrils and Granules isolated from Muscle.
Experientia 9, 342-343 (1953)
- MOR, M.A.: The Influence of Progesterone on Adenosintriphosphatase.
Experientia 11, 33-35 (1955)
- MÜLLER: zit.n. LIPP, R.:
Untersuchungen über den Hemmeffekt des Chloroquin (Resochin^(R)) auf die Zellproliferation in vitro.
Arch.klin.exp.Derm. 218, 228-243 (1964)
- MÜLLER, H.: Kathepsin. Ein Beitrag zu seiner Reindarstellung und Eigenschaften des gereinigten Enzyms.
M. Dittert & Co, Dresden 1940
- MÜLLER, W.: Die Chloroquin-Behandlung der chronischen Polyarthrit. Dtsch.med.Wschr. 84, 1072-1075 (1959)
- MÜLLER, M., C. KREMMER u. E.R. WELCKER: Kombinierte Wirkung von Resochin^(R) auf das Ehrlich-Ascites-Carcinom der Maus. Naturwiss. 21, 513-517 (1964)
- MÜLLNER, T., A. NEUMAYR u. H. PIETSCHMANN: Die klinische Bewertung der Leucin-Amino-peptidasebestimmung im Serum. Wien.klin.Wschr. 74, 321-324 (1962)
- NAGEL, W. u. F. WILLIG: Über stoffwechselbedingte Veränderungen der katheptischen Aktivität in einzelnen Organen. Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem. 324, 45-53 (1961)
- NAGEL, W. u. F. WILLIG: Proteolytische Enzyme im Pankreas unter normalen und pathologischen Bedingungen. Klin.Wschr. 42, 400-412 (1964)

- NAGEL, W., F. WILLIG u.
F.H. SCHMIDT: Über die Aminosäurearylamidase-
(sog. Leucinaminopeptidase-)
Aktivität im menschlichen
Serum.
Klin.Wschr. 42, 447-449
(1964)
- NAGEL, W., F. WILLIG,
W. PESCHKE u. F.H.
SCHMIDT: Über die Bestimmung von Trypsin
und Chymotrypsin mit Amino-
säure-p-nitroaniliden.
Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem.
340, 1-10 (1965)
- NAGY, E. u. L. KOCSAR: Az Atebrin antihistaminszerü
hatásának vizsgálata.
Börg.J.Vener.Szle. 32, 185-
188 (1956)
- NARDI, G.L.: Specific polypeptide substrates
in enzymatic determination of
pancreatic disease.
Surgery 46, 30-37 (1959)
- NEMETH-CSOKA, M.: Untersuchungen über die Kol-
lagenfasern. IV. Teil. Die
Rolle und Wirkung der Plasma-
proteine bei der Bildung von
Kollagenfasern in vitro nach
elektronenmikroskopischen
Untersuchungen.
Acta histochem. 19, 249-253
(1964)
- NETTER, H.: Theoretische Biochemie.
Springer, Berlin 1959
- OPITZ-SPECHT, G. u.
V. KLINGMÜLLER: Enzyme und enzymatische Analy-
sen.
Internist 4, 530-535 (1963)
- ORBINSON, J.L., C.
McCrary u. M. CALLAHAN: Urinary excretion and serum
composition of lathyrctic rats.
Arch.Path. 79, 292-297 (1965)
- PASCHOUD, J.M., B.
SCHMIDLI u. W. KELLER: Über proteolytische Fermente
der normalen menschlichen Haut.
Arch.klin.exp.Derm. 201,
484-494 (1955)
- PINEDA, E.P., J.A. GOLD-
BARG, B.M. BANKS u. A.M.
RUTENBURG: Serum leucine aminopeptidase
in pancreatic and hepato-
biliary diseases.
Gastroenterology 38, 698-712
(1960)

- PROCKOP, D.J. u. S.
UDENFRIEND: A specific method for the analysis of hydroxyproline in tissues and urine. Ann.Biochem. 1, 228-239 (1960)
- PURR, A.: Über Kathepsine und Arginase in einem Melanom beim Pferde. Z.Krebsforsch. 41, 483-487 (1935)
- RACKER, E.: zit.n. COOPER, J., P.A. SVERE, M. TABACHNICK u. E. RACKER: The oxydative pentose phosphate cycle. Arch.Biochem. 74, 306-311 (1958)
- RAFTOPOULO, R.: Über die Äpfelsäuredehydrogenase im menschlichen Serum, im Liquor cerebro-spinalis und anderen Körperflüssigkeiten. Dtsch.Arch.klin.Med. 204, 97-103 (1957)
- RAPOPORT, S.M.: Medizinische Biochemie. VEB-Verlag Volk und Gesundheit, Berlin 1965
- RICHTER, D. u. P.G.
CROFT: Blood Esterases. Biochem.J. 36, 746-757 (1942)
- RODNAN, G.P. u. R.J.
CAMMARATA: Urinary excretion of hydroxyproline in progressive systemic sclerosis (Diffuse Scleroderma). Arthr. and Rheum. 6, 294 (1963)
- RUSH, B. u. E.E.
CLIFFTON: The role of trypsin in pathogenesis of acute hemorrhagic pancreatitis and the effect of antitryptic agent in treatment. Surgery 31, 348-360 (1952)
- RUTENBURG, A.M.: Leucine aminopeptidase activity In: INNERFIELD, I., "Enzymes in clinical Medicine". McGraw-Hill Book Company, Inc. New York-Toronto-London 1958, 264-266

- RUTENBURG, A.M., J.A.
GOLDBARG u. E.P. PINEDA: Leucine aminopeptidase activity: observations in patients with cancer of pancreas and other diseases. New Engl.J.Med. 259, 469-472 (1958)
- RUTENBURG, A.M., E.P.
PINEDA, J. FISCHBEIM u.
J.A. GOLDBARG: A study of serum peptidases in anicteric patients with cancer. Cancer 17, 781-784 (1964)
- SCHMIDT, E. u. F.W.
SCHMIDT: Enzymbestimmungen im Serum bei Leber-Erkrankungen. Enzymol.biol.clin. 3, 1-52 (1963)
- SCHMIDT, E., F.W. SCHMIDT, Die Bedeutung der Messung
H.D. HORN u. U. GERLACH: von Enzym-Aktivitäten in der Medizin.
In: H.U. BERGMAYER, Methoden der enzymatischen Analyse. Chemie-Weinheim 1962, 651-712
- SCHOBEL, B. u. F.
WEWELKA: Die Heterogenität der LAP-Untersuchungen von Organen und Serum bei Leber-, Gallen- und Pankreaserkrankungen. Klin.Wschr. 40, 1048-1056 (1962)
- SCHOTT, H.J. u. H. ABEL: Elektrokardiographische und morphologische Untersuchungen an Rattenherzen beim experimentellen Lathyrismus. Verh.Dtsch.Ges.Path. 1964, 172-178
- SILVERMAN, M.: Interactions of atabrine, thiamine and cocarboxylase. J.Biol.Chem. 178, 423-430 (1949)
- SIMON, H.: Histochemische Untersuchungen zur Wirkung von Chloroquindiphosphat. Naturwiss. 48, 647-648 (1961)
- SMITH, Q.T., J.G.
RUKAVINA u. E.M. HAALAND: Urinary hydroxyproline in various diseases. Acta derm.-vener. 45, 44-49 (1965)

- SÖNNICHSEN, N.: Serumenzyme bei dermatologischen Krankheiten.
Derm.Wschr. 147, 353-370 (1963)
- STALDER, K.: Der experimentelle Lathyrismus und seine Anwendung als Hilfsmittel der Bindegewebsforschung.
Beitr. Silikose-Forsch. S-Bd. Grundfragen Silikoseforschung. 5, 189-204 (1963)
- STARK, G.: Kathepsinaktivität in den Zellfraktionen der Placenta bei Gestosen und Übertragungen.
Zbl. Gynäk. 29, 1142-1145 (1959)
- STARK, G. u. G. SIEBERT: Kathepsinaktivität in Placenten verschiedener Altersstufen.
Arch.Gynäk. 185, 50-59 (1954)
- STEIGLEDER, G.K.: Aminopeptidasen-Aktivität auf der Hautoberfläche.
Klin.Wschr. 40, 1154-1156 (1962)
- STEIGLEDER, G.K., R. KUDICKE u. Y. KAMEI: Die Lokalisation der Amino-peptidasen-Aktivität in normaler Haut.
Arch.klin.exp.Derm. 215, 307-325 (1962)
- STEIN, A.A., S.R. POWERS u. H.H. BROWNE: Experimental hemorrhagic pancreatitis and effect of antitryptic agent in treatment.
Surgery 31, 349-360 (1952)
- STEIN, A.A., S.R. POWERS u. H.H. BROWNE: Experimental hemorrhagic pancreatitis: new concepts of pathogenesis.
Ann.Surg. 143, 508-516 (1956)
- STÜTTGEN, G.: Der fermentative Abbau von Tyramin, Histamin und Acetylcholin in den Schichten der menschlichen Haut.
Arch.klin.exp.Derm. 201, 564-573 (1955)

STÜTTGEN, G., N.
HOFMANN u. W. SIMMICH:

Die Proteolyse normaler
und pathologisch veränder-
ter Haut durch Endopepti-
dasen.

Arch.klin.exp.Derm. 205,
381-388 (1957)

STÜTTGEN, G. u. J.
WÜRDEMANN:

Zur Darstellung der kathepti-
schen Endopeptidase in der
normalen menschlichen Haut
und bei Dermatosen.

Arch.klin.exp.Derm. 208,
192-203 (1959)

TANZER, M.L. et al.:

Collagen metabolism in the
normal and lathyrctic chick.
Exp.Med.Surg. 119, 275-289
(1964)

TAUBER, H.:

The chemistry and technology
of enzymes.

John Wiley & Sons, New York
1949

THEOBALD, W. u. R.
DOMENJOZ:

Nachweis einer anti-inflam-
matorischen Wirkungskomponente
bei Sulfonamiden, Antibioticis
und Malariamitteln.

Dtsch.med.J. 6, 53-57 (1955)

THER, L., H. SCHRAMM u.
G. VOGEL:

On the antagonistic action
of triiodothyronine and
progesterone on the effect
of prednisolone on epiphyseal
cartilage (Tensile strength
test).

Acta endocrin., Kbh. 42,
29-38 (1963)

TRNAVSKÝ, K., Z.
TRNANYVSKÁ, J. MALINSKY
u. V. LAPÁOA:

Die Wirkung des Resochins auf
die biochemischen Veränderun-
gen im entzündeten Gewebe.

Z.Rheumaforsch. 20, 290-297
(1961)

VOEGTLIN, C., H. KAHLER
u. R.H. FITCH:

Bull.Nat.Inst.Health 164,
1 (1935),

in: AMMON, R. u. W. DIRSCHERL:
Fermente - Hormone - Vitamine.
Bd. II.

Thieme, Stuttgart 1959, 261

- VOGEL, G. u. L. THER: Tierexperimentelle Untersuchungen über den Einfluß von Hormonen auf physikalische Eigenschaften von Knochen.
Verh.Dtsch.Ges.Path.,
167-171 (1963)
- VOGEL, G. u. L. THER: Über den Einfluß von einigen Hormonen auf mechanisch-physikalische Eigenschaften des Binde- und Stützgewebes.
Verh.Anat.Ges.,
117-122 (1964)
- WADE, R. and H.W.
JONES Jr.: Effect of progesterone on oxydative phosphorylation.
J.Biol.Chem. 220, 553-561
(1956)
- WARBURG, O., K. GAWEHN u.
G. LANGE: Z.Naturforsch. 9 b (1954),
zit.n.: BRUNS, F.H., E.
BROSSWITZ, H. DENNEMANN,
H.D. HORN u. E. NOLTMANN:
Studien über die Ursachen
des Enzymverlustes der ge-
schädigten Zelle.
Klin.Wschr. 39, 342-346
(1961)
- WEBSTER, P.D. u. L.
ZIEVE: Alterations in serum content
of pancreatic enzymes.
New Engl.J.Med. 267, 656-657
(1962)
- WEHRMANN, R.: Enzyme des Eiweißstoff-
wechsels.
In: Gotttron-Schönfeld, Bd. V,
188-195, 208-210 (1965)
- WEISS, J.M.: Ergastoplasm, its fine
structure and relation to
protein synthesis as studied
with electron microscope in
pancreas of Swiss albino
mouse.
J.Exp.Med. 98, 607-618 (1953)
- WELLS, G.C. u. C.
BABCOCK: Epidermal Protease.
J.invest.Derm. 21, 459-463
(1953)

WENDEROTH, H.:

Erkrankungen des Magens
und des Zwölffingerdarms.
Klinik der Gegenwart, Bd.
VIII, 564-568.
Urban & Schwarzenberg,
München-Berlin 1959

WOHLGEMUTH, J. u.
Y. YAMASAKI:

Über die Fermente der Haut.
Klin.Wschr. 25, 1113-1114
(1924)

WUHRMANN, F. u. H.H.
MÄRKI:

Dysproteinämien und Para-
proteinämien.
Schwabe & Co., Basel-Stutt-
gart 1963.

Herrn Professor Dr.med. G.W. Korting
danke ich für die großzügige Förderung meiner
Arbeit,

Herrn Priv.Do. Dr.med. H. Holzmann
für die Unterstützung bei der Abfassung,

Herrn Dipl.Chem. B. Morsches
für die Durchführung der Versuche und Beratung
bei dem methodischen Teil, sowie

Herrn Dr.med. Lange und Herrn Dr. Überla
für die Beratung bei der Erstellung des stati-
stischen Teiles.

Lebenslauf

Am 7. August 1921 wurde ich in Obermoschel/Pfalz geboren. Nach dem Besuch der dortigen Volksschule und - nach Übersiedlung der Eltern - der Volksschule in Duisburg-Hamborn besuchte ich das Staatliche Oberlyzeum für Mädchen in Duisburg-Hamborn, wo ich 1940 das hauswirtschaftliche und 1941 das wissenschaftliche Abitur ablegte. Zwischenzeitlich absolvierte ich ein halbes Jahr Reichsarbeitsdienst.

Nach dem wissenschaftlichen Abitur war ich ein halbes Jahr im Krankenpflegedienst am St. Barbara-Hospital in Duisburg-Hamborn tätig. Im Wintersemester 1941 begann ich mit dem Studium der Medizin an der Universität München, das ich 1942 an der Universität Köln fortsetzte, wo ich im April 1944 die ärztliche Vorprüfung ablegte. In der Zwischenzeit wurde ich zum Lazarett-Kriegsdienst in Gaesdonk/Niederrhein eingesetzt. Infolge Kriegswirren mußte ich das Studium vorübergehend unterbrechen und führte in dieser Zeit eine ärztliche Tätigkeit am Kreiskrankenhaus Rockenhausen/Pfalz aus. Ich heiratete 1945; Geburten der ersten drei Kinder 1946, 1948 und 1950.

Nach der Eröffnung der Universität Mainz führte ich das Studium weiter und legte das ärztliche Staatsexamen im Sommer 1950 ab. In die folgende Zeit fällt

der Aufbau unserer Existenz, einer Landpraxis in Obermoschel/Pfalz, sowie die Ableistung meiner Medizinalpraktikantenzeit in Simmern und Bad Kreuznach und die gemeinsame ärztliche Tätigkeit mit meinem Mann in unserer Praxis. 1958 Geburt unseres vierten Kindes. Nachdem es die beruflichen und familiären Verhältnisse erlaubten, begann ich meine Promotion an der Universität Mainz vorzubereiten. Zuletzt war ich vom 1. Dezember 1965 bis 15. Juni 1966 als Verwalterin einer wissenschaftlichen Assistentenstelle an der Hautklinik der Johannes Gutenberg-Universität Mainz unter der Leitung von Herrn Professor Dr.med. G.W. Korting tätig.

